

UNIVERZITET U NOVOM SADU
TEHNOLOŠKI FAKULTET NOVI SAD
PREHRAMBENO INŽENJERSTVO

**UTICAJ PROCESA OSMOTSKE
DEHIDRATACIJE NA PROMENE
MIKROBIOLOŠKOG PROFILA
DEHIDRIRANOG POLUPROIZVODA
OD PILEĆEG MESA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:

Prof. dr Siniša Markov

Kandidat:

Dipl. inž. Ivana Filipović

Novi Sad, 2020. godine

SADRŽAJ

Broj strana:

1. UVOD	1
1.1 CILJEVI ISTRAŽIVANJA	3
2. PREGLED LITERATURE.....	4
2.1 OSNOVE PROCESA OSMOTSKE DEHIDRATACIJE	4
2.1.1 Principi osmotske dehidratacije	6
2.1.2 Mehanizam prenosa mase u procesu osmotske dehidratacije	7
2.1.3 Uticaj osmotskog pritiska na ćelije i mikroorganizme	8
2.2 MELASA ŠEĆERNE REPE KAO MEDIJUM ZA OSMOTSKU DEHIDRATACIJU	15
2.2.1 Hemijski sastav melase šećerne repe	16
2.2.2 Mikrobiološki profil melase	18
2.3 ŽIVINSKO MESO KAO SIROVINA U PROCESU OSMOTSKE DEHIDRATACIJE	20
2.3.1 Hemijske karakteristike mesa živine	21
2.3.2 Fizičke karakteristike mesa živine	23
2.4 MIKROBIOLOŠKI ASPEKTI ZDRAVSTVENE BEZBEDNOSTI ŽIVINSKOG MESA	25
2.4.1 Patogeni mikroorganizmi na obrađenom živinskom mesu	25
2.4.1.1 <i>Salmonella</i> serotipovi	25
2.4.1.2 <i>Listeria monocytogenes</i>	27
2.4.1.3 <i>Escherichia coli</i>	30
2.4.2 Uzročnici kvarenja	32
2.4.2.1 Poreklo psihrotrofnih bakterija, uzročnika kvarenja	33
2.4.2.2 Proteolitički mikroorganizmi, uzročnici kvarenja	34
2.5 BIOGENI AMINI	37
2.5.1 Nastajanje biogenih amina	37
2.5.2 Histamin	38
2.6 OKSIDATIVNE PROMENE NA LIPIDIMA MESA	40
2.6.1 Oksidacija lipida	40
2.6.2 Antioksidanti	41
2.6.2.1 Određivanje sposobnosti neutralizacije DPPH radikala	42
2.7 METOD ODZIVNE POVRŠINE	42
3. MATERIJAL I METODI	44
3.1 MATERIJAL	45
3.1.1 Sirovina za osmotsku dehidrataciju	45

3.1.2 Sirovine za osmotske rastvore	45
3.1.3 Mikroorganizmi za inokulaciju	47
3.2 POSTUPAK EKPERIMENTALNIH OGLEDA	48
3.2.1 Uticaj vrednosti procesnih parametara na odzive procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi	48
3.2.2 Uticaj vrednosti procesnih parametara osmotskih rastvora na preživljavanje mikroorganizama	48
3.2.3 Uticaj vrednosti procesnih parametara na preživaljavanje mikroorganizama na mesu pilećih grudi tokom procesa osmotske dehidratacije	49
3.2.4 Uticaj vremena skladištenja na preživaljanje mikroorganizama na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi	50
3.3 METODI	52
3.3.1 Metod određivanja mase uzorka	52
3.3.2 Metodi određivanja sadržaja suve materije	52
3.3.3 Metod određivanja a_w vrednosti	52
3.3.4 Metodi mikrobioloških analiza	52
3.3.5 Metodi hemijskih analiza	53
3.4 STATISTIČKA OBRADA EKSPERIMENTALNIH PODATAKA I PRORAČUNI	54
3.4.1 Proračuni parametara osmotske dehidratacije	54
3.4.2 Proračuni preživljavanja mikroorganizama	55
3.4.3 Proračun koeficijenta varijacije	55
3.4.4 Metodi proračuna matematičkih modela	55
3.4.4.1 Metod odzivne površine	55
3.4.4.2 Matematički model uticaja vremena skladištenja na preživljavanje mikroorganizama na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi.	59
4. REZULTATI I DISKUSIJA	61
4.1 UTICAJ VREDNOSTI PROCESNIH PARAMETARA NA ODZIVE PROCESA OSMOTSKE DEHIDRATACIJE MESA PILEĆIH GRUDI	62
4.1.1 Vrednosti odziva procesa osmotske dehidratacije	62
4.1.2 Statistička značajnost promene odziva procesa osmotske dehidratacije sa promenom vrednosti parametara procesa	64
4.1.3 Matematički modeli odziva procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi	65
4.2 UTICAJ VREDNOSTI PROCESNIH PARAMETARA OSMOTSKIH RASTVORA NA PREŽIVLJAVANJE MIKROORGANIZAMA	75

4.2.1 Matematički modeli redukcionih odnosa mikroorganizama u osmotskim rastvorima	87
4.3 UTICAJ VREDNOSTI PROCESNIH PARAMETARA NA PREŽIVLJAVANJE MIKROORGANIZAMA NA MESU PILEĆIH GRUDI TOKOM PROCESA OSMOTSKE DEHIDRATACIJE	92
4.3.1 Matematički modeli redukcionih odnosa mikroorganizama na mesu pilećih grudi	103
4.4 UTICAJ VREMENA SKLADIŠENJA NA PREŽIVLJAVANJE MIKROORGANIZAMA NA VEŠTAČKI KONTAMINIRANOM I OSMOTSKI DEHIDRIRANOM MESU PILEĆIH GRUDI	107
4.4.1 Mikrobiološka ispitivanja veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi tokom skladištenja	109
4.4.2 Promena odabranih hemijskih parametara veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi tokom skladištenja.....	114
4.4.3 Matematički modeli mikrobioloških i hemijskih odziva veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi tokom skladištenja	116
5. ZAKLJUČCI	120
6. LITERATURA	124
7. PRILOZI	140
7.1 NOMENKLATURA	140
7.2 TABELE	141

1. UVOD

Osmotska dehidratacija poseduje potencijal za dobijanje prehrambenih (polu)proizvoda unapređenih karakteristika, gde se u samom procesu voda iz sirovine uklanja pri nižim temperaturama nego pri konvektivnom sušenju i pri čemu dolazi do poboljšanja kvaliteta dehidriranog materijala. Specifičnost procesa osmotske dehidratacije u poređenju sa drugim metodima sušenja je u postojanju sekundarnog prenosa mase rastvorka iz osmotskog rastvora u tkivo prehrambene sirovine koji se ogleda u prirastu suve materije tkiva nakon dehidratacije. Sa obzirom na ovu specifičnost, sastav osmotskog rastvora ima još značajnu ulogu. Optimizacija procesa osmotske dehidratacije sa aspekta tehnološke efikasnosti, predstavlja osnovni preduslov za dobijanje kvalitetnog osmotski dehidriranog poluproizvoda, uz uštedu vremena, energije i sirovina.

Melasa, koja je nusproizvod industrije prerade šećera, relativno je jeftina sirovina koja sa svojim visokim sadržajem suve materije i izuzetno kompleksnim i bogatim nutritivnim sadržajem ima potencijal za uspešnu primenu u procesu osmotske dehidratacije, kao osmotski rastvor. Do sada je istraživana mogućnost primene melase šećerne repe kao alternativnog osmotskog rastvora za dehidrataciju raznog biljnog (koren mrkve i celera, lišće koprive) i životinjskog (svinjsko i riblje meso) materijala, dok nema literaturnih podataka o takvim istraživanjima na pilećem mesu kao sirovini.

Sveže pileće meso sadrži inicijalnu kontaminaciju poreklom iz objekta za klanje i može se dodatno kontaminirati tokom brojnih faza obrade mesa, kao i tokom pakovanja i skladištenja (polu)proizvoda. Sproveđenjem biosigurnosnih mera na farmama, odgovarajućih mera dobre proizvođačke i higijenske prakse, kao i postupaka zasnovanih na principima HACCP, u promet se stavlja ono meso i proizvodi od mesa koji ispunjavaju kriterijume bezbednosti hrane i kriterijume higijenu u procesu proizvodnje.

Većina bakterijskih vrsta koje su prisutne na živini u jatima nisu patogene, ali se dovode u vezu sa kvarenjem mesa (psihrotrofni i proteolitički mikroorganizmi). Međutim, živina može biti nosilac bakterija od značaja za zdravstvenu bezbednost, kao što su *Salmonella* spp. Salmonele se obično unose u proizvodne pogone sa živom živinom na čijoj se koži i perju, kao i u crevnog traktu, nalaze i mogu se zadržati sve do finalnog proizvoda, ukoliko se ne preduzmu odgovarajuće mere. Nadalje, prisustvo *Escherichia coli* na pilećem mesu ukazuje na loše higijenske uslove u klanicama ili trgovinskim lancima. Većina sojeva *E. coli* su komensalne bakterije crevnog trakta životinja, ali postoje i brojni serotipovi prenosivi hranom koji kod ljudi

izazivaju niz enteričnih tegoba. Poznato je da je *Listeria monocytogenes* ubikvitarna i psihrotrofna bakterijska vrsta, koja može ne samo da preživi već i da se razmnožava na hladnim i vlažnim mestima u proizvodnom pogonu. Ima sposobnost da formira biofilmove čime postaje znatno otpornija na sredstva za dezinfekciju, koja se koriste u industriji hrane u cilju dekontaminacije površina. Iz navedenih razloga, bitno je da se primjenjenim tretmanima u dobijanju poluproizvoda i proizvoda od svežeg pilećeg mesa obezbedi da broj ćelija određenih bakterijskih vrsta bude ispod nivoa maksimalno dozvoljenih vrednosti definisanim odgovarajućim pravnim aktima.

Mikroorganizmi doživljavaju osmotski stres u uslovima koji vladaju u procesu osmotske dehidratacije. Prilikom izlaganja ćelija osmotskom stresu dolazi do gubitka vode koji izaziva značajno skupljanje ćelija sa posledičnim povećanjem koncentracija svih unutarćelijskih metabolita. Zna se da iznenadna plazmoliza može da dovede do inhibicije različitih fizioloških procesa kod salmonela. Za *E. coli* je poznato da se različitim mehanizmima suprotstavlja osmotskom i stresu usled isušivanja. Filogenetskim ispitivanjima je utvrđeno da je *L. monocytogenes* evoluirala da može da izdrži povećani osmotski pritiskak akumulirajući unutarćelijske kompatibilne rastvorke kao i da koristi različite proteine u mehanizmu odgovora na stres usled visokih koncentracija soli.

Analiziranjem uticaja uslova sredine tokom procesa osmotske dehidratacije, u osmotskim rastvorima, na ponašanje različitih vrsta mikroorganizama, koji su od značaja za bezbednost hrane i higijenu procesa, omogućava se kvantifikovanje uticaja osmotskog stresa na iste.

Dosadašnja istraživanja procesa osmotske dehidratacije prethodno spomenutih, prirodno kontaminiranih biljnih i životinjskih materijala, obuhvatala su samo promene mikrobioloških parametara pre i posle dehidrirajućeg procesa. Promene brojnosti živih ćelija tokom samog procesa dehidratacije nisu praćene. Korišćene sirovine za proces osmotske dehidratacije su nabavljane iz prometa što znači da su inicijalno ispunjavali uslove mikrobiološke bezbednosti i minimuma higijene procesa proizvodnje. Detaljnija mikrobiološka ispitivanja, koja podrazumevaju veštačku kontaminaciju, tj. aplikovanje određenih bakterija na sveže pileće meso pre procesa osmotske dehidratacije i promena brojnosti živih ćelija, nisu se sprovodila.

Osmotski dehidrirani biološki materijal, kakvo je pileće meso, ima smanjeni sadržaj vode, odnosno vrednost aktivnosti vode ispod minimalne za rast i razmnožavanje većine bakterija. Zbog nedostatka odgovarajućih literurnih podataka, od značaja je da se utvrdi podobnost veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog pilećeg mesa za preživljavanje

aplikovanih bakterija tokom odabranih uslova skladištenja. U uslovima kada je minorna metabolička aktivnost bakterija, ali je prisutna još dovoljna količina slobodne vode, izvesne hemijske promene, kao što lipolitičko kvarenje mesa su neminovne. Kvantifikovanje veze između hemijskih i mikrobioloških parametara veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog pilećeg mesa tokom skladištenja nije do sada istraživana, a značajna je za stabilnost dobijenog poluproizvoda.

1.1 CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi istraživanja obuhvaćeni ovom doktorskom disertacijom su:

- Ispitivanje uticaja procesnih parametara osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi koji obuhvataju variranje: temperature, vremena trajanja procesa i koncentracije osmotskih rastvora na odzive procesa, radi dobijanja ulaznih podataka za uspostavljanje kontrole i upravljanja procesom u realnim uslovima,
- Ispitivanje uticaja procesnih parametara osmotske dehidratacije (temperature, vremena trajanja procesa i koncentracije osmotskih rastvora) na nivo redukcije odabranih mikroorganizama (*Salmonella* spp., *E. coli*, *L. monocytogenes*) u osmotskim rastvorima, radi definisanja matematičkih modela preživljavanja odabranih mikroorganizama direkno izloženih nepovoljnim uslovima i kvantifikovanja uticaja osmotskog stresa na odabrane mikroorganizme,
- Ispitivanje uticaja procesnih parametara osmotske dehidratacije na preživljavanje mikroorganizama prisutnih na veštački kontaminiranom mesu pilećih grudi, radi definisanja kompleksnih uticaja osmotskog stresa i samog procesa na mikroorganizme na pilećem mesu,
- Ispitivanje uticaja vremena skladištenja na preživljavanje odabranih mikroorganizama (*Salmonella* spp., *E. coli*, *L. monocytogenes*) na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi i definisanje roka skladištenja, na osnovu odabranih mikrobioloških i hemijskih analiza, tokom kojeg je proizvod sa mikrobiološkog aspekta zdravstveno bezbedan i hemijski stabilan.

2. PREGLED LITERATURE

U okviru ovog poglavlja obrađene su teme od značaja za rad. Na početku je dat prikaz osnova procesa osmotske dehidratacije, a zatim se karakteriše melasa šećerne repe kao pogodan medijum za proces osmotske dehidratacije. U nastavku se prikazuju karakteristike živinskog mesa sa aspekta pogodnosti sirovine za proces osmotske dehidratacije i razmatraju mikrobiološki i zdravstveno-bezbednosni aspekti živinskog mesa. Nadalje, prikazuje se teorijska osnova za analizu prisustva biogenih amina, kao i praćenja oksidativnih promena na lipidima mesa. Na kraju, data je kratka teorijska osnova za primen metoda odzivne površine, kao osnovnog alata koji je primenjen u statističkoj obradi dobijenih podataka.

2.1 OSNOVE PROCESA OSMOTSKE DEHIDRATACIJE

Sušenje (uklanjanje vode, dehidratacija) je jedna od glavnih faza tehnološkog postupka prerade većine sirovina u prehrambenoj industriji. Glavni cilj postupka dehidratacije hrane je uklanjanje vode iz materijala sirovine, radi postizanja produženja roka trajanja proizvoda ili smanjenja inteziteta tehnoloških operacija koje slede, tokom daljeg postupka prerade i proizvodnje do finalnog proizvoda. Tehnološke operacije dehidratacije moraju se precizno kontrolisati i optimizovati sa aspekta očuvanja senzorskog kvaliteta, nutritivnog sastava i postizanja mikrobiološke bezbednosti proizvoda (Chen, 2008).

Jedan od načina prerade namirnica kojima bi se poboljšao kvalitet prehrambenih proizvoda predstavlja osmotska dehidratacija. Ovaj tretman poseduje potencijal za dobijanje prehrambenih poluproizvoda unapređenih karakteristika gde se u samom procesu voda iz sirovine uklanja pri nižim temperaturama (bliskim ambijentalnim) nego pri konvektivnom sušenju i pri čemu dolazi do poboljšanja kvaliteta finalnog proizvoda usled prirasta suve materije dehidriranog proizvoda kao specifičnosti procesa (Yadav i Singh, 2014).

Proces osmotske dehidratacije ogleda se u postupku potapanja biološkog materijala, koji sadrži određen sadržaj vode, u vodene rastvore koji sadrže osmotske agense u visokim koncentracijama (osmotski rastvor), pri čemu dolazi do prenosa određenog dela prisutne mase vode iz ćelija materijala sirovine u osmotski rastvor. Osmotske rastvore karakterišu visoke vrednosti osmotskog pritiska i niske vrednosti aktivnosti vode. Najčešće primenjivani osmotski agensi su saharoza i natrijum-hlorid (NaCl). U upotrebi su i ostali osmotski agensi, kao što su glukoza, lakoza, maltodekstrini, glicerin i glukozno-fruktozni sirupi (Sereno i sar., 2001).

Postupak osmotske dehidratacije je jednostavan, ima male energetske zahteve, oprema koja se koristi je jeftina i iz svih tih razloga preporučuje se njegova primena u velikim industrijskim pogonima. Predstavlja jedan od koraka prilikom obrade prehrambene sirovine, kojim se biljno ili životinjsko tkivo tretira pre završnih faza obrade čime se dobija poluproizvod. Jedan od značajnih problema primene ovog procesa u industriji je tretman osmotskog rastvora, kako bi se mogao ponovo upotrebiti, radi postizanja veće ekonomičnosti procesa (Shi i Xue, 2009).

Osmotska dehidratacija se uglavnom koristi kao polazni korak koji prethodi daljem konzervisanju namirnica od sirovina sa visokim procentom vode u sebi, poput zamrzavanja, liofilizacije, vakuum i konvektivnog sušenja (Mandala i sar., 2005).

Poslednjih godina ispitivane su mogućnosti primene melase šećerne repe kao osmotskog rastvora, koje su dala dobre rezultate u pogledu tehnoloških parametara procesa (sadržaj suve materije, gubitak vode i prirast suve materije) i nutritivnih karakteristika dobijenih poluproizvoda (Filipović i sar., 2012; Ćurčić i sar., 2015; Nićetin i sar., 2017).

Sadržaj suve materije životinjskih sirovina koji može da se postigne procesom osmotske dehidratacije zavisi od osmotskog rastvora. Pri temperaturi procesa od 50 °C i vremenu trajanja od 5 časova, u procesima sa rastvorom saharoze i natrijum-hlorida postignut sadržaj suve materije dehidriranih životinjskih sirovina je 69,5%, a u procesima sa melasom 71%. Postignute a_w vrednosti u tim procesima se kreću od 0,795 do 0,802 (Filipović, 2013).

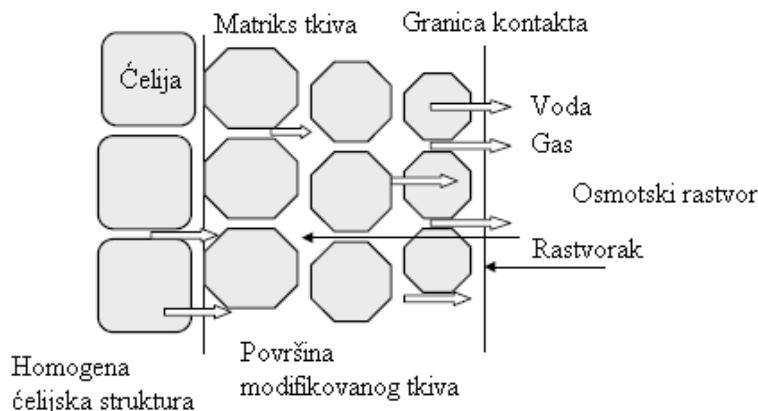
U poređenju sa uobičajenim, konvektivnim, procesima sušenja osnovne prednosti procesa osmotske dehidratacije su:

- Očuvanje ili unapređenje nutritivnih i senzorskih karakteristika (kao što su: sadržaj minerala, vitamina i dr., odnosno boje, ukusa i tekture) materijala koji se tretira,
- Energetski efikasan proces – voda se uklanja bez promene faze, a proces se sprovodi na nižim temperaturama u odnosu na konvektivno sušenje. Sve ovo dovodi do nižih troškova energije,
- Ekološki podoban proces – ako se adekvatno tretira zaostali rastvor, nema sporednih, a ni otpadnih tokova materijala nakon procesa (Moreno i sar., 2000; Dalla Rosa i Giroux, 2001; Moreira i Sereno, 2003).

2.1.1 Principi osmotske dehidratacije

Osmotska dehidratacija predstavlja kombinaciju dehidratacije i obogaćivanja dehidrirane sirovine sa rastvorenim sastojcima osmotskih rastvora, koja može da minimalizuje negativne promene sastavnih komponenti svežih namirnica. Ovaj postupak daje mogućnost unapređenja hrane, pridodajući joj funkcionalne karakteristike i utiče na poboljšanje celokupnog kvaliteta krajnjih novih proizvoda, uz ostvarenje energetskih ušteda (Shi i Xue, 2009).

Pogonska sila za prenos vode iz sveže prehrambene sirovine, koju karakteriše visok sadržaj vode, u osmotski rastvor, je gradijent koncentracije koji se javlja između osmotskog rastvora i unutarćeljskog fluida prehrambene sirovine, slika 2.1 (Shi i Xue, 2009).



Slika 2.1 Šematski prikaz tokova materijala u procesu osmotske dehidratacije

(Shi i Xue, 2009)

Kontrolisanjem ključnih promenljivih parametara procesa, prenos mase može da se usmerava ka:

- osmotskoj dehidrataciji (uklanjanje vode) ili
- natapanju uz obogaćivanje (Ratti, 2009).

Upotrebom visoko koncentrovanog osmotskog rastvora (sa sadržajem suve materije od 50 do 80%), dolazi do intenzivnog izlaska vode iz tkiva sirovine u osmotski rastvor. Ovaj tok materije praćen je i transportom rastvorljivih materija u vodi sirovine ka osmotskom rastvoru. Istovremeno, rastvorak koji se nalazi u osmotskom rastvoru, ulazi u tkivo sirovine koja se dehidrira. Maseni tok vode koja se uklanja iz tkiva sirovine je mnogo intenzivniji od masenog toka ulaska rastvoraka u sirovinu. Tokom procesa osmotske dehidratacije simultani i

protivstrujni procesi (izlazak vode zajedno sa rastvorenim materijama u njoj iz sirovine i ulazak rastvoraka iz osmotskog rastvora u tkivo sirovine) su izotermni i ne javlja se fazna transformacija vode, ali dolazi do strukturnih promena u tkivu sirovine koja se dehidrira (Shi i Xue, 2009).

2.1.2 Mehanizam prenosa mase u procesu osmotske dehidratacije

U cilju ispitivanja kinetike prenosa mase sprovode se istraživanja ovog mehanizma u postupcima osmotskog tretmana prehrabnenog materijala.

Transport mase u sistemu sirovina/osmotski rastvor zavisi od brojnih složenih i često međusobno povezanih fizičkih i hemijskih procesa. Prepoznate su glavne promenljive veličine koje utiču na karakteristike prenosa mase:

- procesni, tehnološki parametri (vreme, temperature, pritisak procesa, koncentracija i sastav rastvora) i
- različiti fluksevi i međusobni uticaji materije.

Razvijeni su različiti matematički modeli za definisanje procesa osmotske dehidratacije i za procenu transporta međusobno zavisnih rastvoraka u poroznom materijalu (Fito i Chiralt, 2000; Shi i Le Maguer, 2002, 2003). Većina ovih razvijenih matematičkih modela bazira se na pretpostavci da je limitirana brzina prenosa mase i da se može predvideti odgovarajućim matematičkim rešavanjima pojednostavljenog drugog Fikovog zakona za nestacionarni difuzioni proces. Razlike u hemijskom potencijalu vode i raznih rastvoraka u sistemu dovode do protoka komponenata između dehidriranog materijala i osmotskog rastvora. Različiti su mehanizmi prenosa, brzine difuzije i ravnotežni sadržaj vode za svaku od ovih komponenata, što utiče na kinetiku prenosa mase i krajnje ravnotežno stanje sistema.

Kinetika prenosa mase se u praksi osmotske dehidratacije obično opisuje pomoću vrednosti gubitka vode ("water loss" – WL ($\text{g/g}_{\text{početnog uzorka(i.s.)}}$)), prirasta suve materije ("solid gain" – SG ($\text{g/g}_{\text{i.s.}}$)) i smanjenja mase tretiranog materijala ("weight reduction" – WR ($\text{g/g}_{\text{i.s.}}$)). Gubitak vode i prirast suve materije mogu da se kvantifikuju merenjem brzine protoka vode i promene suve materije tokom vremena ili merenjem količine gubitka vode i prirasta suve materije nakon određenog vremenskog perioda, a u zavisnosti od količine polaznog materijala (Shi i Xue, 2009; Filipović i sar., 2014).

Kontaktom komada tkiva sa osmotskim rastvorom dolazi do difuzije rastvorka u međucelijski prostor tkiva, dok voda počinje difuzijom da se kreće u suprotnom smeru, ka

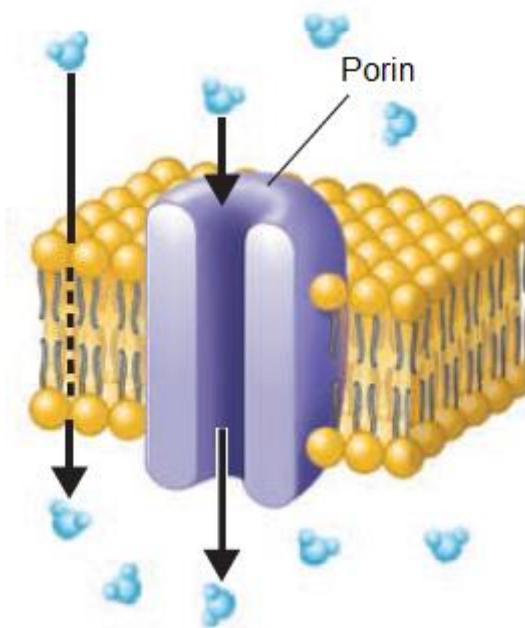
osmotskom rastvoru. Ukoliko je koeficijent prenosa mase sa strane osmotskog rastvora dovoljno visok, koncentracija rastvorka koji se nalazi ispod površine tkiva sirovine postaje skoro trenutno jednaka koncentraciji rastvora. Nakon inicijalnog perioda brzih promena, dolazi do perioda sporijih promena, odnosno, kvazi-stacionarnog stanja. Svojstva prenosa vode u tkivu prehrambenog materijala koje se nalazi potopljeno u osmotskom rastvoru, mogu da se definišu različitim mehanizmima transporta, a koji zavise od karakteristika materijala, sadržaja vode, vrste veza kojima je voda vezana, pritiska u kapilarnim porama, temperature i dr. Voda iz tečnih rastvora se kreće putem relativno jednostavnog fenomena - molekularne difuzije. U kapilarno-poroznim i koloidnim biološkim materijalima, prenos mase se javlja u šupljinama ispunjenim gasom, kapilarima, membranama ćelija i unutarćelijskim i vanćelijskim prostorima. Biološki materijal sadrži mnoštvo koloidnih jedinjenja. Potapanjem biološkog, ćelijskog materijala u visoko koncentrovanom osmotskom rastvoru, ćelije iz prvog sloja tkiva počinju da gube vodu usled gradijenta koncentracije koji se javlja između ćelija i hipertoničnog rastvora, a koje zatim, počinju da se skupljaju. Nakon gubitka vode iz ćelija iz prvog sloja, uspostavlja se razlika u hemijskom potencijalu vode između prvog i drugog sloja ćelija u tkivu koje se dehidrira. Kao posledica ove razlike u hemijskom potencijalu, drugi sloj ćelija počinje da transportuje vodu u prvi sloj ćelija, a posledično se i on skuplja. Fenomen transporta mase (vode) i skupljanja tkiva prostire se od površine ka centru materijala koji se dehidrira u zavisnosti od vremena trajanja procesa. Na kraju procesa dehidratacije ćelije koje se nalaze u centru materijala gube vodu i prenos mase ulazi u ravnotežnu fazu nakon dovoljno dugog vremena kontakta tkiva koje se dehidriralo i osmotskog rastvora (Fito i Chiralt, 2000; Shi i Le Maguer, 2002, 2003).

2.1.3 Uticaj osmotskog pritiska na ćelije i mikroorganizme

Osmoza u biološkim sistemima predstavlja kretanje molekula rastvarača (vode) kroz ćelijsku membranu krećući se kroz fosfolipidni dvosloj prostom difuzijom ili kroz integralne membranske proteine, zvane porini, koji funkcionišu kao kanali za vodu, slika 2.2 (Tortora i sar., 2013).

Proces osmoze se može objasniti pomoću primera celofanske kese, koja ima ulogu selektivno propustljive membrane i koja je napunjena ratvorom saharoze, koncentracije od 20% masenih udela i postavljena u posudu koja sadrži destilovanu vodu. U početku, koncentracije vode sa obe strane membrane su različite. Voda se kreće iz posude u celofansku kesu. Saharoza ne difunduje iz celofanske kese u posudu, jer je celofan nepropusljiv za molekule saharoze.

Kako se voda kreće ka celofanskoj kesi, rastvor saharoze postaje sve razblaženiji. Porast nivoa vode na jednoj strani membrane stvara hidrostatički pritisak koji se suprostavlja osmotskom pritisku koji deluje na membranu. Kada se ova dva pritiska izjednače doći će do uspostavljanja ravnoteže i proces difuzije će se završiti (Tortora i sar., 2013).



Slika 2.2 Osmoza kroz fosfolipidni dvosloj (sa leve strane) i kroz porin (sa desne strane)
(Tortora i sar., 2013)

Termodinamičko stanje vode utiče na mikrobiološku i hemijsku stabilnost i na senzorske karakteristike namirnica prirodnog porekla. Termodinamičko stanje vode je izraženo pomoću aktivnosti vode (a_w) koja je jednaka 0 za absolutno suve materije, a za destilovanu vodu je 1. Smanjenjem a_w vrednosti povećava se stabilnost hrane (mikrobiološka i hemijska), a tekstura se menja iz sočne i elastične, u suvu i plastičnu. Termodinamičko stanje vode u rastvoru je okarakterisano interakcijom molekula vode sa rastvorkom. Svaki molekul sa sopstvenom unutrašnjom energijom i energijom koja je neophodna za interakciju, doprinosi energetskom stanju rastvora. To energetsko stanje izraženo na 1 mol supstance se naziva hemijski potencijal (Lewicki i Lenart, 2006).

Hemijski potencijal predstavlja funkciju temperature, koncentracije i pritiska, a pri konstantnim temperaturama zavisi samo od pritiska i koncentracije (Cazier i Gekas, 2001).

Povećanjem koncentracije rastvorka dolazi do smanjenja hemijskog potencijala vode, što se izražava putem aktivnosti vode na osnovu sledeće jednačine:

$$\mu_w = \mu_{ow} + RT \ln a_w \quad [2.1]$$

gde je: μ_w – hemijski potencijal vode; μ_{ow} – standardni hemijski potencijal vode (pri standardnim uslovima $T = 298$ K i $p = 101,3$ kPa iznosi $-237,18$ kG); R – univerzalna gasna konstanta ($R = 8,314 \text{ J} \times \text{K}^{-1} \times \text{mol}^{-1}$); T – apsolutna temperatura (K); a_w – aktivnost vode.

Interakcija dva sistema sa različitim sadržajem energije podrazumeva razmenu energije koja se odvija do uspostavljanja ravnoteže tj. dok se hemijski potencijali dva sistema ne izjednače. Ravnotežno stanje, pri izotermskim uslovima, može se postići ili promenom koncentracije ili promenom pritiska. Dodatni pritisak neophodan za postizanje ravnotežnog stanja između čistog rastvarača i rastvora naziva se osmotski pritisak i izražen je sledećom zavisnosti:

$$\Pi = -\frac{RT}{V} \ln a_w \quad [2.2]$$

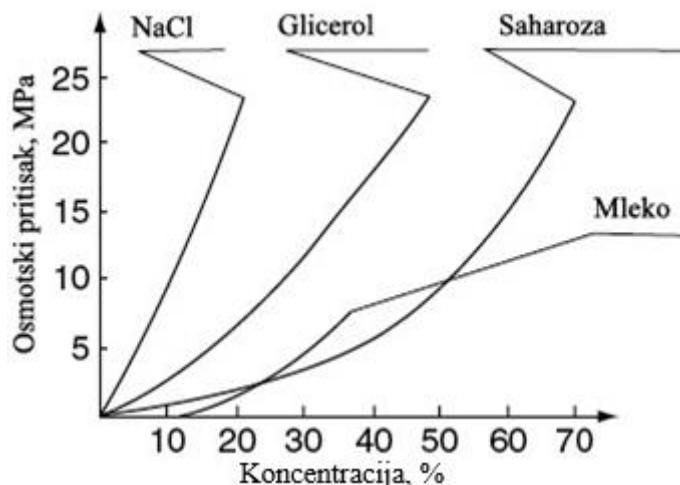
gde V predstavlja molarnu zapreminu rastvora, dok R, T i a_w su definisane u objašnjenju jednačine [2.1]. Postojanje izvesne koncentracione razlike dovodi do pojave osmotskih pritisaka, što je u direktnoj vezi sa pojavom difuzije. Osmotski pritisak kvantifikuje težnju posmatranog sistema da uz pomoć difuzije uspostavi ravnotežu u koncentracijama u svim tačkama gde je ona poremećena. Osmotske sile predstavljaju pogonsku silu procesa difuzije (Đaković, 2006).

Sa obzirom da je u svim namirnicama voda rastvarač, prethodno navedni izraz [2.2] može se pojednostaviti na sledeći način::

$$\Pi = -4.6063 \times 10^{-5} T \ln a_w \quad [2.3]$$

Osmotski pritisak predstavlja jednu od koligativnih osobina rastvora, što za posledicu ima da rastvore elektrolita karakterišu veći osmotski pritisci od rastvora neelektrolita (Potter i Hotchkiss, 1998).

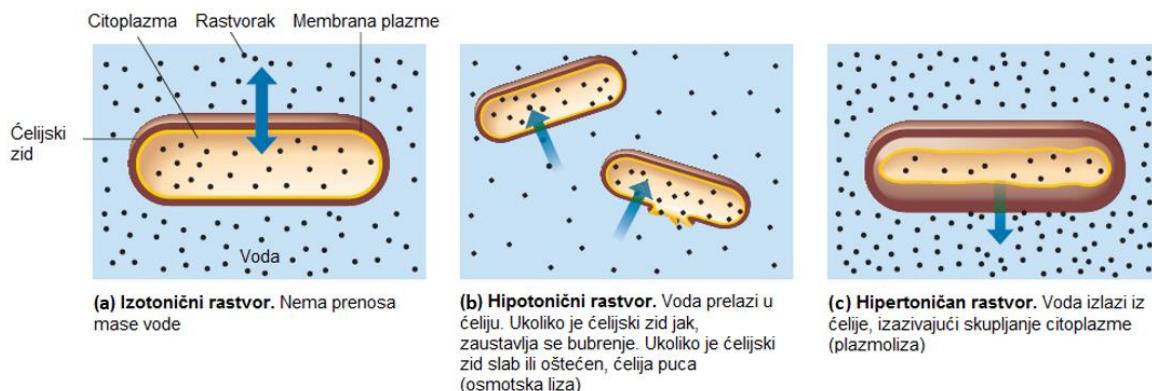
Zavisnost osmotskog pritiska od koncentracije je prikazana slici 2.3. Visok osmotski pritisak može delovati inhibitorno na rast, kao i preživljavanje određenih mikroorganizama.



Slika 2.3 Uticaj koncentracije i vrste rastvora na osmotski pritisak (Lewicki i Lenart, 2006)

Bakterijska ćelija može se izložiti svakoj od tri vrste osmotskih rastvora: izotonični, hipotonični i hypertonični, slika 2.4 (a-c).

Ako je osmotski pritisak neobično nizak (okruženje je hipotonično), kao što je u destilovanoj vodi, voda će težiti da uđe u ćeliju. Neki mikroorganizmi koji imaju relativno slab ćelijski zid mogu da budu osmolizirani takvim tretmanom (Tortora i sar., 2013).



Slika 2.4 Uticaji različitih koncentracija rastvora na ćelije bakterija (Tortora i sar., 2013).

U procesu osmotske dehidratacije, ćelije se izlažu hypertoničnim rastvorima. Hypertonični rastvor je sredina koja ima veću koncentraciju rastvoraka, od koncentracije unutar ćelije. Visoki osmotski pritisci imaju efekat uklanjanja neophodne vode iz ćelije. Kada se bakterijska ćelija nađe u sredini, čija je koncentracija rastvoraka veća od one u ćeliji, celularna voda će izlaziti kroz citoplazmatku membranu i ona će se smežurati, ili plazmolizirati, usled izlaska vode iz ćelije putem osmoze, slika 2.4 c (Tortora i sar., 2013).

Značaj fenomena plazmolize ogleda se u tome, da je rast ćelije inhibiran kako se citoplazmina membrana odvaja od ćelijskog zida. Dodavanje soli (ili drugih rastvoraka) rastvoru i posledični rast osmotskog pritiska, primenjuju se kao vid konzervisanja hrane. Usoljena riba i meso se uglavnom konzervišu primenom ovog mehanizma; visoke koncentracije soli izvlače vodu iz životinjske sirovine, ali i iz svake bakterijske ćelije koja je prisutna i tako inhibiraju njen rast i razvoj. Ovaj proces podseća na vid konzervisanja putem sušenja, jer se oba načina zasnivaju na principu uklanjanja vode iz ćelije, koja je neophodna za njen rast. Neki organizmi, poznati kao ekstremni halofili, su se toliko dobro adaptirali na visoke koncentracije soli, da su im one neophodne za rast i razvoj. Oni se još nazivaju i obligatni halofili i rastu pri koncentracijama soli od 3 do 30%. Češći su fakultativni halofili, koji ne zahtevaju visoke koncentracije soli, nego su u stanju da rastu pri koncentracijama soli do 2%, a to je koncentracija koja inhibira rast mnogih drugih organizama. Nekoliko vrsta fakultativnih halofila imaju sposobnost rasta pri koncentracijama soli do 15% (Tortora i sar., 2013).

Ostali organizmi, npr. *Staphylococcus* vrste nalaze se na koži kao prolazna mikrobiota, primer su halotolerantnih bakterija; oni mogu rasti pri 10 do 20% natrijum-hlorida. Saharofilni (koji vole šećer) mikroorganizmi mogu da rastu u medu i ostalim namirnicama koje sadrže visoke koncentracije šećera. Ovi mikroorganizmi zajedno sa halofilnim mikroorganizmima pripadaju grupi osmofilnih mikroorganizama (vole visok osmotski pritisak). Ovde spadaju neke plesni i kvasci, koji su poznati po tome da mogu rasti u džemu s visokom koncentracijom šećera. Saharofilni kvasci pripadaju sledećim rodovima: *Candida*, *Hansenula*, *Saccharomyces* i *Torulopsis*. Saharofilne plesni pripadaju sledećim rodovima: *Rhizopus* i *Neurospora*. Endospore nekih bakterija npr. *Clostridium botulinum*, lako preživljavaju u osmotski nepovoljnim uslovima - u medu. Gotovo polovina svih slučajeva trovanja tom bakterijom (botulizam) kod dece uzrokovano je ishranom male dece medom, koji je bio kontaminiran endosporama *C. botulinum* (Duraković, 1996).

Da bi mikroorganizmi mogli da održavaju svoje metaboličke aktivnosti neophodno im je da održavaju stabilnu i konstantnu ćelijsku zapreminu i turgor pritisak kroz ćelijske membrane. Promene koncentracija soli u spoljašnjoj sredini dovode ili do prinudnog izlaska vode iz ćelija, što utiče na metaboličke aktivnosti ćelija, ili ulaska soli u citoplazmu ćelija. Proteini su podložni jonskim promenama, tako da visoke koncentracije soli mogu da dovedu do remećenja i izduživanja njihove strukture izazivajući njihovu denaturaciju, što posledično dovodi do zaustavljanja metaboličke aktivnosti mikroorganizama (Lamosa i sar., 1998).

Poznata su dva mehanizma koja koriste mikroorganizmi da se bore sa stresom izazvanim visokim koncentracijama soli. Halofili, mikroorganizmi koji rastu u ekstremnim

uslovima visokih koncentracija soli, koriste „so u citoplazmi“ mehanizme za suprotstavljanje visokim koncentracijama soli u okruženju. Njihovi metabolički mehanizmi se ne ometaju u uslovima povećanih koncentracija soli. Ove visoke koncentracije soli, su čak potrebne da bi se zaštitili njihovi adaptirani biomolekuli od denaturacije. Mehanizam usvajanja soli, do sada je otkriven u slučajevima nekoliko mikroorganizama i nije široko rasprostranjen (Sleator i Hill, 2002).

Većina mikroorganizama se bori sa stresom od visokih koncentracija soli akumulirajući neutralna, visoko rastvorljiva organska jedinjenja. Ova jedinjenja ne reaguju sa metaboličkim mehanizmima mikroorganizama, te stoga se mogu akumulirati u velikim količinama da bi se održao ujednačeni balans sa spoljašnjom sredinom, bez ulaska velikih količina jona soli. Karakteristike rastvorljivosti i ne reagovanja sa metaboličkim mehanizmima ovih jedinjenja su razlog zašto su nazvana kompatibilna rastvorena jedinjenja. Nazivaju se, takođe i osmoprotektanti, jer štite mikroorganizme od osmotskog stresa (Sleator i Hill, 2002).

Mikroorganizmi mogu akumulirati osmoprotektante bilo direktnim usvajanjem, ukoliko su dostupni, iz spoljašnje sredine ili *de novo* biosintezom. U njih se ubrajaju različite klase jedinjenja: šećeri, amino-kiseline, polioli, kao i svi njihovi derivati. Glicin-betaein ili trimetil-glicin je najčešći osmoprotektant većine bakterija (Paul, 2013). Ostali najčešći osmoprotektanti su karnitin i prolin. Karnitin je trimetil-amino-kiselina koju obično, bakterije pod osmotskim stresom, akumuliraju usvajanjem iz spoljašnje sredine. Prolin je amino-kiselina koja može da se akumulira u visokim koncentracijama u ćelijama bakterija i biljki, kao odgovor na stres (Kempf i Bremer, 1998). Dok Gram-pozitivne bakterije akumuliraju prolin kroz unapređenu biosintezu, Gram-negativne bakterije povećavaju njenu koncentraciju usvajanjem iz okолног medijuma (Paul, 2013).

Od uobičajenih šećera, osmoprotektanata, mikroorganizmi akumuliraju saharozu i trehalozu kao odgovor na osmotski stres. Neki od ne uobičajenih osmoprotektanata šećera koji se često javljaju u ćelijama biljaka su: gentibioza, melibioza, maltoza, turanoza, rafinoza, stahioza, verbaskoza, altroza, palatinoza i celobioza (Panikulangara i sar., 2004). Ova jedinjenja se često mogu katabolizovati radi povećanja akumulacije ostalih osmoprotektanata. Neki od šećernih alkohola (polioli), kao što su glicerol, inozitol, manitol, sorbitol, arabinol i maltitol, su takođe osmoprotektanti (Giri i sar., 2013).

U sredinama sa niskim sadržajem vode ili visokim osmotskim pritiscima, plesni i kvasci imaju bolju sposobnost rasta od bakterija, sa obzirom na njihove niže limitirajuće a_w vrednosti za rast (za većinu bakterija minimalna a_w vrednost iznosi 0,91, za većinu kvasaca je 0,85, za većinu plesni 0,8, dok za kserofilne plesni iznosi 0,65, osmofilne kvasce 0,6 i halofilne bakterije

0,75). Ova osobina plesni, u kombinaciji sa njihovom sposobnošću rasta u kiselim uslovima, predstavlja razlog zašto plesni, pre nego bakterije, izazivaju kvarenje voća i žitarica. Većina mikroorganizama, međutim, u laboratorijskim uslovima, mora se uzgajati u podlozi koja sadrži mnogo vode da bi se omogućila visoka a_w vrednost. Na primer, koncentracija agara (polisaharid izolovan iz morskih algi), koji se koristi za učvršćivanje hranljive podloge iznosi oko 1,5%. Ako se koriste značajno veće koncentracije agara, povećani osmotski pritisak može dovesti do inhibicije rasta nekih bakterija. Pored ovog načina povećanja osmotskog pritiska, poznato je i dodavanje značajne količine glicerola u podlogu, kako bi se detektovali osmofilni mikroorganizmi (najčešće kserofilne plesni) (Tortora i sar., 2013).

U mnogim istraživanjima pokazano je da vijabilnost i rast mikroorganizama dosta zavise od osmotskog pritiska i temperature medijuma za rast. Povećanje osmotskog pritiska medijuma i pad temperature uglavnom rezultiraju usporavanjem ili prekidom rasta ćelije, dok u ekstremnim slučajevima može doći i do smrti ćelije. Ukoliko su dehidratacija (koja se može postići sušenjem ili dodavanjem rastvorka) i hlađenje (na temperaturi iznad temperature zamrzavanja) optimizovani, moguće je očuvanje ćelija. Da bi se očuvala vijabilnost ćelije tokom takvih tretmana, potrebno je uzeti u obzir nekoliko parametara. Karakteristike ćelije, kao što je fiziološka faza rasta, u velikoj meri utiču na oporavak ćelija nakon tretmana. Sastav medijuma ima važnu ulogu, jer sadrži šećere i amino-kiseline koje utiču na povećanje otpornosti ćelije na fizičko-hemiske tretmane. Kontrolisanjem variranja kinetike osmotskog pritiska i temperature, može se postići optimizacija procesa sušenja i hlađenja. Na primer, na ambijentalnoj temperaturi (25°C) sporo i postupno povećanje osmotskog pritiska omogućava ćelijama da se odupru izuzetno visokim nivoima osmotskih pritisaka, dok ćelije podvrgnute osmotskom šoku, pri kome se ostvaruje isti nivo hidratacije kao i slučaju lineranog povećanja osmotskih pritisaka, smrtan je za ćeliju. Vijabilnost mnogih mikroorganizama, uključujući bakterije i kvasce, izuzetno je osetljiva na velike brzine hlađenja, u temperturnom opsegu od 25 do 5°C . Dokazano je da mehanizmi koji dovode do smrti ćelije počinju od oštećenja ćelijske membrane (Beney i sar., 2001).

Kada su ćelije izložene povišenom osmotskom pritisku medijuma, uočavaju se dva procesa. Prvi proces koji se javlja, je pasivna faza izlaska vode, kao posledica gradijenta osmotskog pritiska između ćelije i spoljašnje sredine. Tok vode koji prolazi kroz ćelijsku membranu proporcionalan je gradijentu osmotskog pritiska. Tokom ove faze dolazi do smanjenja zapremine ćelije, usled dehidratacije citoplazme u bakterijskoj ćeliji, što za posledicu može dovesti do smrti ćelije, kao što je već izneto u prethodnom tekstu. Drugi proces predstavlja odbrambeni mehanizam ćelije, javlja se samo kada nije suviše velik gradijent

osmotskog pritiska, i to je biološki odgovor kroz aktivni osmoregulatorni sistem ćelija. Ovaj metabolički proces sastoji se od biosinteze rastvoraka i brze modifikacije propustljivosti membrane koja omogućava ulaz vode iz spoljašnje sredine. Kod bakterijske ćelije, regulisanje zapremine ćelije i turgora sastoji se u kontrolisanju akumulacije jona kalijuma (K^+) i daljeg nakupljanja ili stvaranja organskih komponenti kao što su prolin i/ili glicin-betaein. Ovaj aktivan odgovor omogućava ćeliji da obnovi svoju zapreminu kada membrana nije oštećena tokom pasivne faze odbrambenog mehanizma ka povišenom osmotskom pritisku. U istraživanju je naglašena je važnost kinetike dehidratacije i rehidratacije s ciljem sprečavanja smrti ćelije. Vijabilnost ćelije je bolja kada se procesi dehidracije i/ili rehidracije sporije odvijaju, dok osmotski šok deluje letalno na ćeliju (Mille i sar., 2002).

Proučavana je veza između preživljavanja mikroorganizama i promena u strukturi fosfolipida membrane. Laroche i sar. (2001), su dokazali da je smrt ćelija kvasca *Saccharomyces cerevisiae* tokom osmotskog šoka vezana za promenu u strukturi membrane. Uzimajući u obzir termotrofnu prirodu fosfolipida ćelija *E. coli*, prepostavlja se da temperatura i nivo hidratacije utiču na otpornost ćelije ka osmotskom pritisku (Laroche i sar., 2001).

2.2 MELASA ŠEĆERNE REPE KAO MEDIJUM ZA OSMOTSKU DEHIDRATACIJU

U industriji šećera melasom se naziva sirup dobijen na poslednjem stepenu kristalizacije; sadrži saharozu, vodu i veliku količinu rastvorenih nešećera, koji su preostali u soku posle čišćenja ili su se obrazovali kao rezultat razlaganja saharoze i hemijskih reakcija komponenata retkog i gustog soka pri uparavanju i kuvanju šećerovina (Šušić i sar., 1995).

Melasa je tamno-mrki sirup velikog viskoziteta 6,5-8,0 Pa×s (pri 40 °C) koji sadrži oko 50% saharoze. Ova činjenica ima poseban praktičan značaj, jer se u tehnološkom postupku proizvodnje šećera dobija oko 4% melase računato na količinu prerađene repe, što znači da pri prosečnom sadržaju šećera u repi, od 16 do 18%, u melasi ostaje oko 11-13% od ukupne količine saharoze koja se ne može dobiti u kristalnom obliku. Melasa, pored saharoze, sadrži oko 30-35% drugih jedinjenja i oko 15-20% vode (Šušić i sar., 1995).

Viskozitet melase predstavlja ograničavajući faktor u vođenju procesa kristalizacije saharoze jer otežava centrifugisanje poslednje šećerovine. U tehnološkom postupku proizvodnje šećera proces se vodi tako da sahariza iz matičnog sirupa ne iskristališe kompletно,

već samo do određene granice, pošto se pri velikom sadržaju suve materije viskozitet matičnog sirupa jako povećava i centrifugisanje šećerovine postaje teško izvodljivo (Šušić i sar., 1995).

2.2.1 Hemijski sastav melase šećerne repe

Hemijski sastav melase je izrazito kompleksan. U melasi je detektovano više od 200 različitih organskih i neorganskih jedinjenja, tabela 2.1.

Polikomponentni hemijski sistem melase je dosta promenljiv, jer zavisi uglavnom od sastava šećerne repe koja je polazna sirovina, zatim zavisi od primenjenih različitih tehnoloških procesa u fazama čišćenja difuzionih sokova i kristalizacije saharoze iz pogonskih šećernih sirupa. Najveće razlike u hemijskom sastavu melase su u količinama rafinoze, invertnog šećera i mineralnih materija (Šušić i sar., 1995).

Tabela 2.1 Prosečan hemijski sastav melase šećerne repe
(Šušić i Sinobad, 1989; Šušić i sar., 1995)

Sadržaj organskih supstanci (%)	Sadržaj mineralnih supstanci (%)	
Šećeri	K ₂ O	4,3
Saharoza	Na ₂ O	0,9
Glukoza	CaO	0,26
Fruktoza	MgO	0,14
Invertni šećer	SiO ₂	0,1
Rafinoza	Al ₂ O ₃	0,07
Proteini	Fe ₂ O ₃	0,02
Glutaminska kiselina	CO ₃ ²⁻	3,5
Betain	SO ₄ ²⁻	0,55
Ostala N-jedinjenja	Cl ⁻	1,6
Organske kiseline	PO ₄ ³⁻	0,06
Ostale organske supstance		
Ukupno:	Ukupno:	11,5
Ukupno suve materija : 72,5+11,5 =		84,0

Melasa ima visok sadržaj suve materije, koju u najvećoj meri čine saharoza, betain i proteini.

U melasi pored saharoze (u količini od 51%), prisutni su i ostali šećeri u manjim količinama: od trisahraida rafinoza (u količini od 1%), a od monosaharida glukoza i fruktoza (u količinama od po 0,25%). Invertni šećer melase delom potiče iz repe, čiji sadržaj u svežoj repi ne prelazi vrednost 0,1%. Značajan deo invertnog šećera obrazuje se kao rezultat hidrolize

saharoze u procesu dobijanja šećera. Proizvodi inverzije, glukoza i fruktoza, snižavaju sadržaj saharoze i narušavaju kvalitet melase, pošto u toku tehnološkog postupka dobijanja saharoze prelaze u kiseline i učestvuju u obrazovanju bojenih materija (Šušić i Sinobad, 1989).

Melasa šećerne repe ne predstavlja značajni izvor proteina. Proteini melase šećerne repe spadaju u grupu makromolekula koji pretežno sadrže mono-amino-di-karbonske kiseline sa oko 50% glutaminske kiseline. Od esencijalnih amino-kiselina melasa sadrži lizin, valin, izoleucin, leucin i fenilalanin (Šušić i Sinobad, 1989).

U sastav melase šećerne repe ulaze i neproteinske azotne komponente u slobodnom stanju: betain, koji je glavni sastojak azotnih materija šećerne repe (u količini od oko 6%), slobodna glutaminska kiselina (oko 4%), holin, alantoin, purin, citozin, gvanozin, cistidin (u količini od oko 1,5% ukupno) (Thalasso i sar., 1999).

Betain predstavlja bioaktivno jedinjenje, sa značajnim fiziološkim funkcijama u organizmu čoveka, jer je osmolit i donor metil grupe u mnogim biohemiskim procesima. Melanoidini, kao predstavnici azotnih organskih jedinjenja, nastaju u postupcima polimerizacije monomera slobodnih amino-kiselina i redukujućih šećera, na osnovu mehanizma Maillard-ovih reakcija. Tamna boje melase potiče od melanoidina i produkata karamelizacije (Šušić i Sinobad, 1989; Kojić i sar., 2019).

Bezazotna organska jedinjenja u melasi se nalaze u malim količinama (od 3 do 9%), koja su, bez obzira na male količine, korisna za zdravlje ljudi. Glavne supstance ove grupe jedinjenja su soli mlečne kiseline. Mravlja, sirćetna i jabučna kiselina, pektini, galaktani, arabani, dekstrani, levani i proizvodi karamelizacije su takođe prisutni u melasi šećerne repe (Šušić i Sinobad, 1989).

Melasa sadrži i značajne količine brojnih mikronutrijenata (vitamina i minerala), naročito kalijuma, kalcijuma, gvožđa, magnezijuma i vitamina B kompleksa. Sve mineralne komponente melase su u disosovanom obliku i kalijum se nalazi u znatno većoj količini od svih ostalih katjona, u dela od oko 75% u količini mineralnih komponenti. Tehnološki postupci proizvodnje doprinose koncentrisanju toplotno stabilnih vitamina i vitamina stabilnih u baznoj sredini u melasi (Šušić i sar., 1995).

Tokom procesa prerade šećerne repe, u melasi ostaju rastvorene sve komponente iz biljnih sirovina koje nisu uklonjene izdvajanjem šećera. Pored zaostalog šećera, koji više nije moguće, pod povoljnim tehnološkim uslovima kristalizovati, u melasi se nalaze i velike količine minerala, vitamina, a takođe i zaostaci teških metala, pesticida i sl., koje imaju štetan efekat na ljudsko zdravlje. Melasa nastala u procesu organske proizvodnje poseduje manji rizik. Štetne materije, koje se potencijalno nalaze u melasi, ne potiču iz biosintetskog ciklusa biljnih

sirovina. Saponini, kao predstavnici triterpenskih derivata glikozida, u melasi potiču direktno iz repe i oni iskazuju hemolitičko delovanje. Saponini u hrani se obično smatraju za antinutritivne faktore, međutim, otkako se dokazalo da snižavaju holesterol i deluju antikancerogeno, prehrambeni izvori koji sadrže saponine postaju interesantni (Gurfinkel i Rao, 2003; Kim i sar., 2003). Melasa šećerne repe ima sadržaj saponina oko 0,025%, što je koncentracija koja se smatra neškodljivom za zdravlje ljudi (Šušić i Sinobad, 1989). Glavne namirnice koje su izvori saponina predstavljaju leguminoze (kikiriki, soja, sočivo, pasulj), a prisutne su i u belom i crnom luku, ovsu, šparagli, španaću i čaju. Melasa sadrži SO₂ u količinama neškodljivim po zdravlje ljudi, a on potiče od SO₂ koji se koristi u tehnološkom procesu proizvodnje, za snižavanje pH vrednosti vode za ekstrakciju rezanaca. Literaturni podaci pokazuju da sadržaj SO₂ u melasi se kreće u opsegu od 0,01 do 0,05%, dok su objavljene i manje dokazane količine od 0,001 do 0,005% (Jevtić-Mučibabić, 2005).

2.2.2 Mikrobiološki profil melase

Iz pregleda dostupne i aktuelne literature iz časopisa sa "Science Citation Index" lista nije pronađeno više informacija o mikrobiološkom profilu melase šećerne repe, pa je stoga korišćena dostupna, nešto starija, literatura: Šušić i sar. (1995), u kojoj su navedeni u to vreme aktuelni nazivi mikroorganizama.

Sa repom u fabriku dolazi, pored drugih primesa, i zemlja, a sa njom i mnogo mikroorganizama. Repa se, usled toga, mora dobro oprati od zemlje higijenski ispravnom vodom. Na tehnološka svojstva melase znatno utiče njena inficiranost mikroorganizmima. Mikroorganizmi koji se nalaze u melasi potiču iz repe; to su oni mikroorganizmi koji su preživeli proces proizvodnje šećera ili su dospeli u melasu tokom njenog transporta i skladištenja. Uzrok povišene infekcije melase često može da bude nepridržavanje u fabrici, u dovoljnoj meri, sanitarno-higijenskih zahteva (Šušić i sar., 1995).

Mikrobiota melase je mnogobrojna i promenljiva. Nju čine uglavnom sporogene bakterije (*Bacillus subtilis*, *B. mesentericus*, *B. megaterium* i bakterije roda *Clostridium* spp.) i nesporogene (*Leuconostoc mesenteroides* i *L. agglutinans*). Takođe, se u melasi mogu naći i kvasci roda *Saccharomyces* i *Candida*.

Uobičajeni i prirodni sastav mlečno-kiselinskih bakterija normalne i defektne melase suštinski se razlikuju. U melasama tzv. normalnog sastava prevladavaju štapičaste forme (oko 80%) *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. pastorianus*, ređe *L. helveticus*, *L. delbrueckii*;

heterofermentativne koke *Leuconostoc mesenteroides* i *L. dextranicum* čine samo 3,5% (Šušić i sar., 1995).

U defektnim melasama (sa visokim sadržajem SO₂, isparljivih kiselina, nitrita, bojenih materija i koloida ili melasa koje imaju izraženi stepen mikrobiološke infekcije) dominiraju heterofermentativne koke. Oko 75% sojeva, izolovanih iz melasa izmenjenog sastava, bilo je identifikованo kao *Leuconostoc mesenteroides* i *L. dextranicum* (Šušić i sar., 1995; Vučurović, 2012).

Melase sa sadržajem suve materije 76% i većim imaju dobru održivost, jer visok sadržaj suve materije ne dozvoljava razmnožavanje mikroorganizama u njima. To se objašnjava time, da se pri visokom sadržaju suve materije sve bakterije nalaze u abiotičkom (inhibiranom) stanju, ali u melasama sa nižim sadržajem suve materije neke od bakterijskih vrsta prelaze u normalno stanje i sposobne su za obavljanje životnih aktivnosti. Tako, melase sa nižim sadržajem suve materije, kontaminirane bakterijama roda *Leuconostoc*, postaju kisele (nastaje mlečna kiselina) uz nastajanje dekstrana. Pored ove promene, bakterije *Bacillus subtilis*, *B. mesentericus*, *B. megatherium* imaju sposobnost redukcije nitrata u nitrite čije prisustvo u malim koncentracijama sputava razmnožavanje kvasaca (Šušić i sar., 1995).

Šušić i sar. (1995) navode veoma različite podatke o broju mikroorganizama u melasi. Tako se mogu naći podaci da melasa ima nekoliko stotina mikroorganizama pa do 500.000.000 cfu/g. Prema broju mikroorganizama, melase se mogu podeliti u tri grupe. Smatra se da je melasa odličnog kvaliteta ako sadrži mikroorganizama manje od 10.000 cfu/g melase. Ovakva melasa se dobro sterilije i nije joj izmenjen hemijski sastav. Zadovoljavajući je kvalitet melase ako sadrži broj mikroorganizama do 100.000 cfu/g melase. U treću grupu spada melasa koja sadrži mikroorganizama više od 5.000.000 cfu/g melase. Takva melasa je neupotrebljiva za proizvodnju pekarskog kvasca jer se ne postiže uobičajen prinos i proizvedeni kvasac nije najboljeg kvaliteta.

Mikroorganizmi dospevaju u melasu sekundarnom kontaminacijom, jer se ona transportuje i skladišti u nesterilnim uslovima. Usled velikih količina melase koju je potrebno skladištiti, obično se koriste gvozdeni kesoni sa slobodnim vazdušnim prostorom iznad površine melase. Iz vazduha u melasu dospevaju razni mikroorganizmi koji se ne mogu razvijati zbog izuzetno visoke koncentracije supstanci i znatno većeg osmotskog pritiska od onog u čelijama kontaminenata. Međutim, iako su bakterije koje kontaminiraju melasu pretežno bakterije sirčetne kiseline i bakterije buterne kiseline, usled mogućnosti prisustva i nekih vrsta bakterija kao što je *E. coli*, pre upotrebe u procesu proizvodnje hrane, melasa se mora sterilisati (Šušić i sar., 1989).

2.3. ŽIVINSKO MESO KAO SIROVINA U PROCESU OSMOTSKE DEHIDRATACIJE

Osmotska dehidratacija je proces u kome se dobijaju prehrambeni poluproizvodi, u slučaju tretiranja živinskog mesa, kao sirovine, dobija se poluproizvod od živinskog mesa. Pravilnik o kvalitetu usitnjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa („Sl. glasnik RS“, br. 50/2019) definiše poluproizvode od mesa kao proizvode od svežeg mesa, kao i meso koje je usitnjeno i kome su dodate namirnice, začini ili aditivi ili koje je izloženo procesu nedovoljnog da modifikuje unutrašnju strukturu mišićnog vlakna i tako eliminiše karakteristike svežeg mesa.

U Republici Srbiji, kriterijumi bezbednosti hrane i kriterijumi higijene u procesu proizvodnje za poluproizvode od mesa definisani su u Pravilniku o opštim i posebnim uslovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa („Sl. glasnik RS“, br. 72/2010 i 62/2018) koja je u skladu sa kriterijumima definisanim u Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 od 15. novembra 2005.

Kvalitet mesa živine može se posmatrati sa tehnološkog, nutritivnog i senzorskog aspekta. Pod tehnološkim kvalitetom mesa podrazumeva se pogodnost mesa za različite postupke prerade. Tehnološki kvalitet definišu niz fizičko-hemijskih osobina, kao što su pH vrednost, sposobnost vezivanja vode, intenzitet boje, čvrstina i ujednačenost strukture mesa. Sadržaj masti kao i njihov sastav, oksidativna stabilnost, sadržaj minerala i vitamina predstavljaju nutritivni aspekt kvaliteta mesa, prikazano u tabeli 2.2, dok se senzorski kvalitet može procenjivati senzorskom analizom, a obuhvata niz svojstava (boju, mramoriranost, mekoću, sočnost, miris i ukus). Sva ova nabrojana svojstva zavise od velikog broja činilaca koji međusobno utiču jedni na druge, a među kojima su najvažniji genotip, ishrana, način držanja životinja, klimatski uslovi, postupanje sa životinjom pre klanja, omamljivanje i klanje, hlađenje i način čuvanja mesa (Petracci i Baeza, 2009).

Tabela 2.2 Hemijske i fizičke karakteristike živinskog mesa (Petracci i Baeza, 2009)

Hemijske karakteristike	Fizičke karakteristike
Sadržaj vode	pH i R-vrednost*
Sadržaj ukupnih masti	Boja
Sadržaj proteina	Sposobnost vezivanja vode
Sadržaj pepela	Dužina sarkomere
Masnokiselinski sastav	
Sadržaj holesterola	
Sklonost ka oksidaciji	
Sastav amino-kiselina	
Sadržaj kolagena	
Sadržaj pigmenata	

* R-vrednost - Odnos adenin/inozin

2.3.1 Hemijske karakteristike mesa živine

Različiti tipovi živinskog mesa poseduju slične prosečne hemijske sastave. Pileće i čureće meso sadrži nešto više proteina, a nešto manje masti u poređenju su goveđim i drugim vrstama crvenog mesa. Pileće meso karakterišu visoko vredni proteini, zaokruženog amino-kiselinskog sastava, a takođe je i dobar izvor polinezasićenih masnih kiselina (Ω -3 i Ω -6). Najzastupljenija mononezasićena masna kiselina je oleinska masna kiselina, koja zajedno sa palmitinskom (zasićena masna kiselina) i linolnom (polinezasićena masna kiselina) čini bar 68% ukupnih masnih kiselina koje se nalaze u tkivima živine. Ukupan sadržaj masti živinskog mesa povećava se sa starošću životinje. Među zasićenim masnim kiselinama, u mesu pilećih grudi (belo meso) sa najvećim udelom su palmitinska (21-24%), stearinska (15-17%) i miristinska (0,4-1,02%) kiselina. Od mononezasićenih najzastupljenija je oleinska kiselina (22-33%), a od polinezasićenih linolna kiselina (Ω -6) (16-24%), zatim arahidnonska (1,5-5,6%) (Ω -6) i linoleinska (Ω -3) (1,15-2,51%) kiselina (Kishowar i sar., 2004).

Prepoznata je značajnost polinezasićenih masnih kiselina u ljudskoj ishrani, te stoga se preporučuje da se njima zadovoljava od 6 do 11% od ukupnih energetskih potreba ljudi. Dokazano je, takođe, da polinezasićene masne kiseline umanjuju rizik od srčanih i oboljenja krvnih sudova, a da mogu biti korisne i u sprečavanju hipertenzije, ateroskleroze, inflamatornih i autoimunih bolesti, diabetesa i karcinoma. Polinezasićene masne kiseline su takođe i sastavni deo ćelija mrežnjače i moždanih membrana, tako da imaju ulogu i u funkciji nerava. Sadržaj holesterola pilećeg belog mesa je nizak i kreće se u rasponu od 245 do 627 mg/kg (Kishowar i sar., 2004).

B_2 , B_6 i B_{12} vitamini, zajedno sa mineralima gvožđa, cinka i fosfora se takođe mogu uneti pilećim mesom. Kod mesa pilećih grudi razlikuju se svetlo/belo (meso grudi) i tamno/crveno (meso bataka sa karabatakom). Svetlo i tamno meso razlikuju se međusobno po karakteristikama. Mišićna vlakna svetlog mesa poseduju više jedara, aktivnije glikogenaze i manje mioglobina, karakteriše ih manja količina masti i vode, a veća količina proteina od tamnog mesa. U tamnom mesu su zastupljeniji oksidacioni procesi, sadrži više mioglobina, dipeptida karnozina i anserina i tripeptida glutationa. Podaci o hemijskom sastavu iz literature su veoma različiti, i to u zavisnosti od provenijencije koja se ispitivala. Sadržaj proteina, pepela i vode u mesu brojlera je relativno uravnotežena, dok količina masti varira (Ristić i sar., 2007).

U istraživanju Van Heerden i sar. (2002) navedeno je da je prosečan hemijski sastav mesa pilećih grudi (brojleri provenijencije: Ross 308, Cobb, Ross 788): 74,01% vode, 2,91% masti, 23,29% proteina i 1,11% pepela, a u mesu bataka sa karabatakom: 72,47% vode, 8,91% masti, 19,16% proteina i 1,0% pepela. Wattanachant i sar. (2004), su ustanovili je da meso pilećih grudi (brojleri provenijencije CP707) prosečno sadržalo: 20,59% proteina, 0,68% masti, 1,10% pepela i 74,87% vode, dok meso bataka sa karabatakom: 19,08% proteina, 0,81% masti, 1,06% pepela i 77,22% vode. Podaci Lonergan i sar. (2003), pokazuju da je meso grudi komercijalnih brojlera prosečno sadržalo: 24,02% proteina, 73,42% vode i 1,08% masti.

U istraživanju Živkov-Baloš (2004), ustanovljeno je da je meso grudi provenijencije Arbor Acres prosečno sadržalo: 74,02% vode, 25,65% proteina, 0,56% masti i 1,25% pepela, a meso karabataka je sadržalo: 74,09% vode, proteina 21,20%, masti 3,13% i pepela 1,07%.

Ristić i sar. (2007) su objavili da je prosečan hemijski sastav belog mesa brojlera provenijencije: ASA, AA, Hybro, Lohmann, Ross, Shaver, Pilch, Peterson i Cobb, iznosilo: 74,9% vode, 23,6% proteina, 0,6% masti i 1,2% pepela, dok je u za crveno meso hemijski sastav iznosio: 75,4%, vode, 19,6% proteina, 3,88% masti, 1,1% pepela.

U svim navedenim literaturnim podacima uočava se da meso bataka sa karabatakom sadrži uvek više masti od mesa grudi. Mnogi faktori utiču na hemijski sastav mesa svih životinja, pa stoga i mesa brojlera, kao što su: starost i pol jedinke, ishrana i stepen uhranjenosti, provenijencija, odnosno genetika, način gajenja (npr. da li je organska proizvodnja), anatomska regija koja se posmatra, itd. (Ristić i sar., 2008; Krischek i sar., 2011).

2.3.2 Fizičke karakteristike mesa živine

Određeni fizički parametri, kao što su: pH vrednost i temperatura, boja mesa i njegova sposobnost vezivanja vode, od izuzetnog su značaja za određivanje kvaliteta mesa nakon klanja (Rede i Petrović, 1997).

Posledica iskrvarenja životinje je gubljenje sposobnosti kontrole temperature tela. U nekim organima i u dubokim slojevima skeletne muskulature, temperatura odmah nakon klanja može i da poraste. Razlog mogu biti procesi koji oslobađaju energiju, ali i neke operacije na liniji klanja, koje mogu doprineti akumulaciji toplote u trupu. Čim se utroše rezerve zaostalih metabolita, trup i organi zaklane životinje postepeno se hlade, jer više ne postoje mehanizmi za održavanje toplote na fiziološkom nivou (Rede i Petrović, 1997).

Usled prestanka snabdevanja kiseonikom organa i tkiva, brzo dolazi do trošenja rezervi kiseonikom, a samim tim prestaju oksidativni, a prednost postepeno preuzimaju anoksidativni procesi. Biohemski procesi u mesu odvijaju se pod anaerobnim uslovima, određenim tokom koji je međusobno uslovljen, usled čega intenzitet i priroda tih procesa dovode do promena tehnoloških i jestivih svojstava mesa. Posle određenog vremena nakon klanja, ispoljava se delovanje enzima mikroorganizama, koji su se naknadno razmnožili u mesu. Usled ovoga dolazi do razgradnje mišićnog i vezivnog tkiva, u mesu započinju procesi kvarenja, tako da ono postaje postepeno opasno po ljudsko zdravlje (Rede i Petrović, 1997).

Proteoliza je skup složenih biohemskih procesa u kojima se proteini pod uticajem endogenih enzima hidrolizuju u manje jedinice - peptide i slobodne amino-kiseline. Nastali produkti proteolize direktno utiču na teksturu mesa i učestvuju u stvaranju karakteristične arome i ukusa, odnosno formiranju konačnih senzorskih svojstava mesa (Molina i Toldrá, 1992).

Biohemiske promene u mesu mogu se kvantifikovati praćenjem promena pH vrednosti i temperature mesa. Posle klanja životinje, stvaranje energije se nastavlja u mišićima, oni se kontrahuju i proizvode toplotu. Posle klanja zaustavlja se krvotok i na taj način se prekida snabdevanje mišića sa kiseonikom i hranljivim materijama, dok se kao izvor energije koriste ćelijske rezerve glikogena, koji se anaerobno razgrađuje. Kao produkt razgradnje glikogena nastaje mlečna kiselina i posledično se pH vrednost mesa snižava. Upravo je pH vrednost jedan od najbitnijih parametara kvaliteta mesa, sa obzirom da pad pH vrednosti prouzrokuje denaturaciju proteina i preobražaj mišića u meso. Dalje, pH vrednost, delovanjem na proteine mesa, posredno utiče i na ostale parametre kvaliteta mesa, kao što su: boja, sposobnost

vezivanja vode, električna provodljivost, mekoća mesa i dr. Nakon klanja životinje, pH vrednost se snižava sa 7,2 na oko 5,3 do 5,7, u zavisnosti od vrste životinje, postupanja sa njom neposredno pre klanja, temperature tokom postmortalnog procesa i vrste mišića. Trajanje procesa anaerobne glikolize zavisi od vrste životinje, a i od vrste mišića koji se analizira. Najbitniji trenutak za kvalitet mesa je vreme početka hlađenja trupova, koje bi trebao da počne odmah, neposredno nakon evisceracije. Sa higijenskog i tehnološkog aspekta kvaliteta mesa od značaja je vreme početka i intenzitet hlađenja trupova. Poželjno je što brže spuštanje temperature trupa do vrednosti koje sprečavaju ili usporavaju razmnožavanje mikroorganizama, kao i dalje odvijanje različitih biohemijskih procesa u mesu. Snižavanjem temperature smanjuje se i stepen postmortalne glikolize, što dalje usporava dodatno opadanje pH vrednosti (Owens i sar., 2000; Lesiow i sar., 2009).

Boja predstavlja jednu od najvažnijih karakteristika kvaliteta živinskog mesa, jer potrošači prvobitno biraju meso na osnovu njegove boje. Ona predstavlja kombinaciju vizuelno shvaćene informacije sadržane u svetlosti koju odašilje ili rasipa uzorak, odnosno kao osećaj izazvan podražajem mrežnjače svetlosnim zracima različitih talasnih dužina (SRPS EN ISO 5492:2015).

Ocena boje mesa ima značajnu ulogu prilikom određivanja promena kvaliteta mesa. Postoje tri uzroka promena u boji:

1. Boja mesa zavisi od sadržaja pigmenta, posebno mioglobina, koji je uslovljen vrstom, starošću životinje, kao i načinom ishrane,
2. Zbog svog uticaja na brzinu opadanja kao i na krajnju pH vrednost mesa, postupak klanja ima posredan uticaj na boju mesa,
3. Oksigenacija i oksidacija pigmenta u mesu, koja utiče na promenu boje, zavisi od uslova čuvanja, transporta i prodaje mesa (Carvalho i sar., 2017).

Odlika mesa da zadrži vodu tokom različitih faza čuvanja, obrade i kuvanja kvanitfikuje se parametrom sposobnosti vezivanja vode (SVV). SVV je jedan od najbitnijih funkcionalnih parametara mesa koji je izuzetno značajan za njegov kvalitet (mekoća, sočnost i izgled). Ukoliko su životinje izložene stresu pre klanja, dolazi do pada pH vrednosti dok je životinja još živa, zatim povećane temperature mesa u ranom *post mortem* periodu i lošeg uticaja na boju i stabilnost boje mesa (Zhang i sar., 2012).

Smatra se da nepovoljna pH vrednost i temperatura najznačajnije utiču na SVV mesa, pri čemu se smanjenjem pH vrednosti i povećanjem temperature otpušta voda iz mesa (Dadgar, 2010).

Stvaranje mlečne kiseline, što dovodi i do posledičnog snižavanja pH vrednosti mesa, dovodi do denaturacije proteina, te stoga oni gube SVV. Otpuštanje vode se povećava sa većim padom pH vrednosti tokom prvog sata nakon klanja. Na osnovu toga proističe da stres neposredno pred klanje negativno utiče na sposobnost mesa da zadrži vodu (Zhang i sar., 2012).

Količina vode u mesu i sila sečenja mesa su u negativnoj korelaciji, odnosno sa manjom sposobnošću mesa da zadrži vodu, smanjuje se i mekoća mesa, dok sila sečenja mesa raste (Lee i sar., 2008).

2.4. MIKROBIOLOŠKI ASPEKTI ZDRAVSTVENE BEZBEDNOSTI ŽIVINSKOG MESA

Sveže pileće meso može se kontaminirati tokom brojnih faza obrade mesa, kao što su operacije na liniji klanja, obrada pilećeg mesa, pakovanje i skladištenje. Većina bakterijskih vrsta koje su prisutne na živim jedinkama nisu patogene, ali se dovode u vezu sa kvarenjem mesa. Međutim, živila može da služi kao rezervoar za mnoge zoonozno patogene bakterije, kao što su *Salmonella* serotipovi, *Campylobacter jejuni*, *L. monocytogenes*, *Clostridium perfringens* i *Staphylococcus aureus* (Davis i sar., 2010).

2.4.1 Patogeni mikroorganizmi na obrađenom živinskom mesu

Sveže živinsko meso je prirodno okruženje za bakterije, te postoji nekoliko vrsta bakterija koje su od posebnog interesa za industriju prerade živinskog mesa.

2.4.1.1 *Salmonella* serotipovi

Živila je jedan od najvećih rezervoara salmonela u prirodi i najčešći je izvor infekcije kod ljudi. Salmonela može da se izoluje iz brojnih životinjskih vrsta. Meso brojlera je frekventni prenosnik salmonele i potencijalni je izvor kontaminacije ljudi; tako je u godišnjem izveštaju “European Food Safety Authority” (EFSA), objavljenim 2013. godine, za 2011. godinu navedeno da je u Evropskoj uniji utvrđeno prisustvo salmonela u 5,9% uzoraka mesa brojlera (Rašeta i sar., 2014), dok je u 2018. godini detektovano njen prisustvo u 7,15% uzoraka živinskog mesa (EFSA i ECDC, 2019). Na liniji klanja pokazaće se sve higijenske mere koje su sprovedene od boravka živine na farmi, preko transporta do samog procesa klanja i obrade.

Ispitivanjem prisustva salmonela na liniji klanja dobijaju se podaci o higijeni tokom postupka proizvodnje, kao i o efikasnosti svih ranijih preuzetih mera tokom primarne proizvodnje (Rašeta i sar., 2014).

Salmonele koje kolonizuju digestivni trakt živine mogu biti različitog porekla, a kao izvori najčešće se navode roditeljska jata, hrana, divlje ptice i glodari (Pui i sar., 2011). Uz izuzetak *S. Gallinarum* i *S. Pullorum*, klinički simptomi obično nisu prisutni, a pozitivna jata predstavljaju potencijalnu opasnost po zdravlje ljudi (Carrasco i sar., 2012).

Postoje tri sindroma bolesti kod ljudi koje izazivaju salmonele: tifusnu groznicu, paratifusnu groznicu i gastroenteritis. *S. Typhi* (koja izaziva tifusnu groznicu) i *S. Paratyphi* (koja izaziva paratifusnu groznicu) se retko sreću u industrijski razvijenim delovima sveta. One se šire fekalno oralnim putem i jedini rezervoari ovih sojeva su ljudi (Davis i sar., 2010).

Sa druge strane, gastroenteritis (netifusna salmoneloza) izazivaju *S. enterica* serotipovi. Ovi serotipovi se nalaze u crevnom traktu ljudi i životinjskih vrsta, dok je živila identifikovana kao primarni rezervor za većinu ovih tipova salmoneloza (Bryan i Doyle, 1995). Trenutno, preko 2400 serotipova *S. enterica* su identifikovani i svi se smatraju patogenim za ljudi. Gastroenteritis kod ljudi, koji izazivaju salmonele varira od umerenog do jakog i opisuje se kao samo-ograničena infekcija donjeg crevnog trakta. Infektivne doze za organizam variraju od 10^4 do 10^6 ćelija. Simptomi se obično javljaju 12-36 časova nakon konzumiranja i uključuju mučninu, povraćanje, blagu do jake dijareje, groznicu, stomačne grčeve i slabost (Davis i sar., 2010; Crump i Wain, 2017).

Kod ljudi, u našoj zemlji, najzastupljeniji je serovarijetet *S. enterica*, subspecies *enterica* serovar Enteritidis (*S. Enteritidis* 90,05%), zatim slede *S. Typhimurium* (3,21%), *S. Hadar* (1,91%), *S. Infantis* (1,33%), dok nalaz *S. Stanleyville*, *S. Agona*, *S. Tompson* i *S. Virchow* ne prelazi 0,5% (Stošić i sar., 2007). Prema zvaničnim podacima u Republici Srbiji za 2018. prijavljeno je 55 epidemija salmoneloza sa teritorije 12 okruga. Ukupno su u epidemijama obolele 523 osobe, od kojih je 110 lečeno bolnički. Nije bilo smrtnih slučajeva u epidemijama. Najčešće izolovani uzročnik je *S. Enteritidis* (50). U tri epidemije nije urađena tipizacija, dok su u po jednoj epidemiji izolovane *S. Paratyphi B* i *S. Mbandaka*, što ukazuje da se vremenom menja rasprostranjenost određenih serotipova (Kisić Tepavčević i sar., 2019).

Potencijal za široku rasprostranjenost ukazuje na sposobnost salmonela da preživi u životnoj sredini. Ove bakterije se obično unoše u proizvodne pogone sa živom živilom na čijoj se koži i perju, kao i u crevnom traktu, nalaze. Bez odgovarajuće intervencije, salmonela može da se zadrži sve do finalnog proizvoda. Do kontaminacije trupova obično dolazi prilikom

procesa klanja, a najznačajnije operacije su šurenje, čupanje perja i evisceracija, prilikom kojih lako može doći do unakrsne kontaminacije (Carrasco i sar., 2012).

Oboljenja mogu da se javе kada se u procesu prerade živinskog mesa ne primenjuje dobra higijenska praksa, kada se proizvodi toplotno ne tretiraju na odgovarajući način i/ili se ne ispoštuju temperaturni režimi (Davis i sar., 2010).

Na rast i opstanak salmonela u hrani utiču brojni faktori, a najznačajniji su temperatura, pH vrednost i aktivnost vode (a_w vrednost), koji deluju međusobno jedni na druge kao i sa sastojcima hrane ili sredine u kojima se bakterije nalaze. Temperaturne granice u kojima ispoljavaju rast i razmnožavanje su od 5-47 °C sa optimalnom temperaturom rasta na 37 °C. U zamrznutoj hrani broj salmonela polako opada, a stopa njihovog opadanja je srazmerna smanjenju temperature na kojoj se namirnica skladišti. Osetljive su na toplotu i mogu se lako uništiti na temperaturi pasterizacije, izuzev *S. Senftenberg*, koja je najotporniji serotip na visoke temperature. Minimalna a_w vrednost sredine koja dozvoljava rast salmonela je oko 0,93, mada preživljava veoma dobro u dehidriranoj hrani. Raste u širokom opsegu pH vrednosti od 3,8-9,5 sa optimumom na 7 (Martin i Moss, 2008).

Poslednjih nekoliko godina, ispitivan je mikrobiološki kvalitet svežeg, ohlađenog i zamrznutog živinskog mesa iz različitih lanaca za snabdevanje tržišta. Postoje dva osnovna načina snabdevanja potrošača svežim pilećim mesom. Prvi, tradicionalni način prodaje mesa živine, je u mesarama, gde je meso neupakovano i gde se higijena tokom manipulacije i skladištenja mesa, dovodi u pitanje, dok je drugi način prodaja u supermarketima, gde je pileće meso upakovano u odgovarajuću amabalažu. Temperatura skladištenja mesa, na različitim mestima prodaje, ima značajan uticaj na smanjenje prisustva salmonela u trupovima živine (Vaskas, 2012). U jednoj studiji trupovi skladišteni na ambijentalnoj temperaturi bili su kontaminirani salmonelom u 37% slučajeva, dok su ohlađeni trupovi bili kontaminirani u 34% slučajeva, a trupovi skladišteni na temperaturi zamrzavanja u 35% slučajeva. Meso živine iz proizvodnih pogona bilo je kontaminirano salmonelom u najmanjem broju uzoraka (24%), u poređenju sa mesom živine uzorkovanim u supermarketima (30%), mesom uzorkovanim na pijacama (44%) i u maloprodajnim objektima (48%) (NidaUllah i sar., 2016).

2.4.1.2 *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes je široko rasprostranjena i relativno otporna bakterija u prirodi. Izolovana je iz zemljišta, slatke i slane vode, raznih vrsta namirnica biljnog i životinjskog porekla, ljudi, kanalizacionog mulja i silaže. Životinje predstavljaju značajne rezervoare

listerija, jer se one normalno nalaze u fecesu, tonzilama i na koži. Smatra se da se pojedine listerije mogu adaptirati na opremi i u klanici i na taj način kontaminirati meso (Ojenyi i sar., 2000). U radu Mahmood i sar. (2003) pozitivni rezultat na prisustvo *L. monocytogenes* je bio u 12,5% uzoraka svežeg pilećeg mesa, dok je u radu Abd El-Malek i sar. (2010), pozitivni rezultat iznosio 44% za zamrznute pileće filete i 56% za zamrznute pileće batake. Njena patogenost je uglavnom oportunistička, napadajući osobe sa narušenim imunim sistemom. Kod pacijenata sa narušenim imunim sistemom, listerioza može da pređe u meningitis i da postane opasnost po život. Temperaturne granice u kojima ispoljava rast i razmnožavanje su od 0 do 42 °C sa optimalnom temperaturom rasta između 30-35 °C (Martin i Moss, 2008).

L. monocytogenes može da toleriše koncentracije NaCl i do 10% u zavisnosti od temperature, kao i da preživi godinu dana u uslovima koncentracije NaCl od 16% na pH 6,0. Raste u opsegu pH vrednosti od 4,5-9,6, dok je optimalni pH za rast na 7 (Martin i Moss, 2008).

Istraživanje Vasseur i sar. (1999) je pokazalo da povećanje osmotskog pritiska dodavanjem različitih količina NaCl dovelo do produženja lag faze i smanjenja brzine rasta *L. monocytogenes*.

L. monocytogenes raste pri minimalnim a_w vrednostima sredine od 0,92, koja dodatno zavisi i od sastava sredine i temperature. Analizirano u laboratorijskim uslovima, minimalna a_w vrednost za rast *L. monocytogenes* u podlozi sa glicerolom, je iznosila: 0,90. Ima sposobnost da preživi u suvim sredinama tokom dužeg vremenskog perioda. Na inhibiciju rasta *L. monocytogenes*, organske kiseline, kao što su: mlečna, sirčetna i disirčetnea, kao i njihove soli, imaju znatno veći uticaj, nego mineralne kiseline. Ova osobina je značajna jer dovodi do smanjenja rizika od listerioznih toksikoinfekcija, sa ciljem obezbeđivanja kvaliteta i zdravstvene bezbednosti prehrabnenih proizvoda (Vesković i Đukić, 2015).

Sa obzirom da je *L. monocytogenes* psihrotrofnna bakterija, ona može da preživi na hladnim i vlažnim mestima u proizvodnom pogonu, kao što su odvodi, oprema za hlađenje i zamrzavanje. Najčešća mesta na kojima je dokazano prisustvo ove bakterije, a koja nisu u kontaktu sa hranom, su podovi, zidovi, kamioni, cipele, kvake na vratima i toaleti. Mesta u kontaktu sa hranom, uglavnom su kontaminirana od proizvodne opreme, ali takođe je i oprema radnika zabeležena kao rezervoar *L. monocytogenes*. Ovaj mikroorganizam je sveprisutan na raznolikoj proizvodnoj opremi kao što su: kontejneri, bazeni za prihvatanje namirnica, mašine za skidanje kože, sečenje, rezanje i pakovanje, jer sadrže delove nepristupačne za dezinfekciju (Lundén i sar., 2002; Suihko i sar., 2002). Vezivanje *L. monocytogenes* za proizvod ili opremu, kao stvaranje biofilma, ima veoma veliki značaj za održavanje higijene, jer je bakterija u tom

stanju znatno otpornija na tzv. stres faktore koji se uobičajeno koriste u industriji hrane u cilju dekontaminacije površina sa kojima hrana dolazi u kontakt (Donlan, 2002). Pokazalo se da *L. monocytogenes* može da adherira na nekoliko vrsta materijala koji dolaze u kontakt sa hranom (npr. nerđajućim čelikom, gumom i plastikom), kao i da postaje sve otpornija na sredstva za čišćenje (Beresford i sar., 2001). Vreme i temperatura skladištenja gotovih proizvoda mogu uticati na eventualno prisutnu *L. monocytogenes*. Iz literturnih podataka (Hoffman i sar., 2003) se može zaključiti da nivo listerija do trenutka konzumacije proizvoda (pet različitih vrsta ribe) retko prelazi 10^3 cfu/g.

Mnoge studije pokazuju da isečeni proizvodi od mesa pilećih grudi u maloprodajnim objektima imaju veći nivo bakterijske kontaminacije nego proizvodi od mesa pilećih grudi pripremljeni u proizvodnom pogonu. Do povećanja koncentracije bakterija dolazi prilikom sečenja svežeg mesa za svakog kupca, ponaosob. Dokumentovano je da je poslednje isečeno parče mesa imalo najveći broj *L. monocytogenes* u poređenju sa prethodnim isečenim parčadima mesa, a usled korišćenja neadekvatno opranog i dezinfikovanog pribora (Chaitiemwong i sar., 2014). Usled nedostatka odgovarajućih dezinficijensa i neadekvatnog načina pranja i održavanja daski za sečenje izrađenih od drveta i polietilena, može doći do prenošenja *L. monocytogenes*, kao i do unakrsne kontaminacije ostalih proizvoda. Broj *L. monocytogenes* na mesu pilećih grudi u odnosu na broj bakterija na dasci za sečenje, zavisi od materijala od koga je daska izrađena. Podaci istraživanja Guat i sar. (2014), pokazuju da je u slučaju korišćenja daske za sečenje od drveta, verovatnoća prenosa bakterija na pileće meso 73,5%, dok je u slučaju korišćenja plastične daske za sečenje, verovatnoća unakrsne kontaminacije čak 90,2% (analizirano 30 minuta nakon sečenja kontaminiranog svežeg mesa na istoj dasci za sečenje).

Prisustvo *L. monocytogenes* u hrani spremnoj za konzumiranje ("ready to eat" - RTE), tj. u proizvodima od mesa koji su toplotno tretirani, ukazuje da je došlo do naknadne kontaminacije mesa nakon proizvodnih procesa, obično tokom manipulacije. Ova naknadna kontaminacija utiče na bezbednost hrane, jer za ove proizvode nije predviđeno rutinsko zagrevanje i kuhanje pre konzumacije, zbog čega je Ministarstvo poljoprivrede Sjedinjenih Američkih Država ("United States Department of Agriculture" - USDA) uvela pravilo nulte tolerancije za *L. monocytogenes* u proizvodima od mesa koji su spremni za konzumiranje (Davis i sar., 2010).

U zemljama Evropske unije kriterijum prisustva *L. monocytogenes* u RTE proizvodima od mesa specificiran je u Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 od 15. novembra 2005. o mikrobiološkim kriterijumima za hranu. Broj *L. monocytogenes* ne sme preći

100 cfu/g u proizvodu stavljenom u promet tokom roka njegove upotrebe, ovo se odnosi na proizvode koji ne podržavaju rast *L. monocytogenes*. U proizvodima koji podržavaju njen rast, neophodno je odsustvo *L. monocytogenes* u 25 g proizvoda. Kada se govori o prisustvu *L. monocytogenes* samo u RTE proizvodima od mesa, u 2009. godini na nivou Evropske unije je detektovana u 2,6% RTE proizvoda od svinjskog mesa, 2,2% živinskog i 1% goveđeg (EFSA i ECDS, 2011), dok je u 2018. godini detektovano njeno prisustvo u 3,1% RTE proizvoda od goveđeg, 1,5% živinskog i 1,2% svinjskog mesa (EFSA i ECDC, 2019). U Republici Srbiji, pravna regulativa iz oblasti higijene i bezbednosti hrane je definisana u Pravilniku o opštim i posebnim uslovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa („Sl. glasnik RS“, br. 72/2010 i 62/2018) i u potpunosti je usaglašena sa kriterijumima definisanim u Commission Regulation (EC) No. 2073/2005 od 15. novembra 2005.

2.4.1.3 *Esherichia coli*

Većina sojeva *E. coli* su komensalne bakterije koje nastanjuju creva ljudi i životinja. Predstavljaju indikatore fekalne kontaminacije koja uglavnom potiče od ljudi, kao i iz vode ili hrane. Međutim, neki sojevi *E. coli* predstavljaju glavni uzrok nekoliko bolesti kao što su infekcija mokraćnih puteva, gastroenteritis i neonatalni meningitis. Uprkos bogatim mehanizmima promene tokom evolucione istorije *E. coli*, mogu se odrediti robustne filogenetske grupe od kojih su neke „obogaćene“ patogenim sojevima. Iako postoje dokazi da su neki patogeni sojevi evoluirali iz komensalnih sojeva *E. coli*, još uvek je teško utvrditi koji su geni ili genetske promene odgovorni za to da *E. coli* postane patogena. Razlog za to proizilazi iz mnogih svojstava karakterističnih za različite patogene sojeve *E. coli* koja su različita od komensalnih sojeva, kao što je sposobnost kolonizacije specifičnog mesta mukoze, izbegavanje odbrambenih mehanizama i oštećenje tkiva domaćina (Proença i sar., 2017). Patogeni sojevi *E. coli* dele se u pet virulentnih grupa: enteroagregativne, enterohemoragične, enteroinvazivne, enteropatogene i enterotoksigene. Enterohemoragičan *E. coli* O157:H7 soj je jedan od najčešće ispitivanih mikroorganizama ovog patogena koji se prenosi hranom (McKee, 2012a).

E. coli je tipičan mezofil, sa temperaturnim opsegom od 7-10 °C do 50 °C, dok je optimalna temperatura za njen rast oko 37 °C, mada postoje podaci da neki enterotoksigeni sojevi (ETEC) mogu da rastu na temperaturi od 4 °C (Martin i Moss, 2008).

E. coli je širom sveta pronađena u proizvodima živinskog mesa. Prisustvo *E. coli* u proizvodima od mesa ukazuje na loše higijenske uslove u klanicama ili trgovinskim lancima (Adzitey i sar., 2011). Prevalencija ove bakterije u živinskom mesu kao i u proizvodima

živinskog mesa je različita u različitim delovima sveta. Zabeleženo je da u Indiji stopa prevalencije *E. coli* iznosi čak 98% (Sharma i Chattopadhyay, 2015). U Sudanu je prevalencija *E. coli* iznosila 57,8%, dok je u Maroku 48,4% i 16% u Nigeriji (Cohen i sar., 2007). Na osnovu ovih podataka vidi se da u raznim zemljama sveta primenjuju različiti nivoi higijenskih praksi i sistema kontrole kvaliteta. U zemljama sa dobrom higijenskom i proizvodnom praksom beleži se niži nivo kontaminacije u pogonima za klanje (Adzitey i sar., 2011).

Sistem „Redukcija patogena/HACCP“ za sve pogone za klanje živine zahteva ispitivanje na prisustvo *E. coli*, kao indikatora ispravnosti procedura za preradu i sanitaciju (USDA-FSIS, 2000). Učestalost detekcije ovog mikroorganizma kod živine dosta varira, od 11,9 do 71% kod čuraka (Zhao i sar., 2001; Kegode i sar., 2008), i od 38,7 do skoro 100% kod pilića (Zhao i sar., 2001; Northcutt i sar., 2003; Forward i sar., 2004; Kegode i sar., 2008). U istraživanjima Jiménez i sar. (2003) *E. coli* je bila najčešće detektovana bakterija, u udelu od 59,7% od izolovanih bakterijskih sojeva sa pilećih trupova. Ovaj mikroorganizam je bio detektovan u 50% svih pilećih trupova bez vizuelne fekalne kontaminacije i u 59,7% trupova sa vizuelnom fekalnom kontaminacijom, koja dokazuje neadekvatno izvedenu evisceraciju (McKee, 2012b).

Velika većina izolata *E. coli* iz piletine su adaptirani na ptice kao domaćine i ne smatraju se kao potencijalni patogeni za ljude (Barnes i Gross, 1997). Međutim, živila je podložna infekciji sa *E. coli* O157:H7, visoko patogenim mikroorganizmom, koji izaziva hemoragični enteritis kod ljudi (Stavric i sar., 1993). Veliku zabrinutost izaziva i jedan dokumentovan slučaj izolacije *E. coli* O157:H7 iz živinskog mesa i stvarne veze sa izazivanjem oboljenja sa dijarejom kod ljudi, koje se prenalo preko kontaminiranih proizvoda od čurevine (Griffin i Tauxe, 1991). Ovi izveštaji ukazuju da je živilo podložna na ovaj bitan patogen po ljude i da se preventivne mere moraju preduzimati da bi se izbeglo eventualno uvođenje *E. coli* O157:H7 u jata živila. Neophodno je sprečiti kontakt sa drugim vrstama životinja (posebno sa stokom i stočnim fekalijama) koje su ponekad inficirane ovom bakterijom. Ovo je posebno značajno jer živila jata inficirana sa *E. coli* O157:H7 predstavljaju realnu pretnju po zdravstvenu bezbednost hrane i nove izazove u pogledu zakonskih regulativa. Tokom poslednje dekade, međutim, nije bilo značajnih dokaza da visoko virulentni *E. coli* izolati živinskog porekla doprinose bolestima ljudi koje se prenose hranom. Ovi podaci su uticali da se kontaminacija živinskih trupova sa *E. coli* ne smatra značajnom direktnom pretnjom za bezbednost hrane, iako je verovatno da će se u regulativnim dokumentima nastaviti praćenje ovog mikroorganizma kao indikatora fekalnog zagađenja (Davis i sar., 2010).

U cilju smanjenja stope kontaminacije mesa pilećih grudi iz maloprodajnih objekata sa *E. coli*, od izuzetnog je značaja da se primenjuju adekvatne strategije za smanjenje mikrobioloških rizika u lancu ishrane. Pod ovim strategijama se podrazumevaju primena praksi na farmama kojima će se redukovati prenos patogena, povećanje higijene u toku postupka klanja i proizvodnje mesa, primena HACCP sistema kao i povećanje edukacije potrošača. Da bi se obezbedila zdravstvena bezbednost u uslovima kućne pripreme, kao i u uslovima objekata za masovnu pripremu hrane, mora se izbeći nedovoljan topotni tretman, kao i unakrsna kontaminacija tokom rukovanja i pripreme hrane (Zhao i sar., 2001).

2.4.2 Uzročnici kvarenja

Kvarenje mesa je posledica akumulacije metaboličkih nus-produkata ili aktivnosti vanćelijskih enzima psihrotrofnih bakterija, koje se razmnožavaju na površinama mesa pilećih grudi na temperaturi frižidera. Neki od ovih nus-produkata postaju prepoznatljivi kao stran miris i sluz pošto bakterije iskorišćavaju nutritijente dostupne na površini mesa. Metabolički nus-produkti bakterija, uzročnika kvarenja variraju u zavisnosti od dostupnih izvora energije. Kada je populacija mala, bakterijske ćelije koriste glukoza kao primarni izvor energije. Nus-produkti metabolisanja glukoze obično nisu mirisi i ne doprinose značajno kvarenju. Međutim, kako populacija bakterija raste, dostupnost glukoze se smanjuje, bakterije počinju da koriste druge supstrate, kao što su proteini, čijim metabolisanjem se stvaraju krajnji proizvodi mnogo intenzivnijih mirisa (Pooni i Mead, 1984). Proteoliza tkiva mišića i kože počinje nakon iscrpljivanja sadržaja glukoze ili glukonata (Lampropoulou i sar., 1996). Pooni i Mead (1984) su utvrdili da početni strani miris ne potiče od razlaganja proteina mesa i kože, kako se ranije mislilo, već od direktnog metabolisanja nisko-molekularnih azotnih jedinjenja, kao što su amino-kiseline, koje su prisutne u koži i mišićima.

Stvaranje sluzi je takođe pripisivano proteolitičkoj aktivnosti bakterija koje rastu na površini mesa. Mnogi autori su dokazali da razlaganje mesa bakterijama roda *Pseudomonas* rezultuje formiranjem sluzi (Russell, 2010).

2.4.2.1 Poreklo psihrotrofnih bakterija, uzročnika kvarenja

Bakterije koje rastu na mesu skladištenom na niskim temperaturama, nazivaju se psihrotrofne bakterije. Pripadaju i Gram-pozitivnim bakterijama mlečne kiseline i Gram-negativnim bakterijama (*Pseudomonas* spp. i neke od Enterobacteriaceae). *Pseudomonas* vrste najčešće izazivaju kvaranje mesa, koje se čuva na niskim temperaturama (Ercolini i sar., 2009).

Psihrotrofne bakterije se prilagođavaju uslovima temperature frižidera sintetišući fosfolipide i neutralne lipide sa povećanim udelom nezasićenih masnih kiselina. Na taj način obezbeđuje se održavanje fluidnosti lipida, omogućavajući nastavak metaboličke aktivnosti ćelija, prenosa rastvoraka i lučenja ekstraćelijskih enzima. Neke psihrotrofne bakterije proizvode proteaze i lipaze koje izlučuju u spoljašnju sredinu da bi apsorbovali i iskoristili nastale proizvode hidrolize (Ribeiro Júnior i sar., 2018).

Psihrotrofne populacije bakterija koje su pronađene na trupovima ptica neposredno nakon prerade, potiču od perja i nogu, procesne vode u pogonu, tankova za hlađenje i procesne opreme. Ove bakterije se obično ne nalaze u crevima živih ptica. Na perju ptica mogu da se nađu velike populacije *Acinetobacter* (10^8 cfu/g). Ostali psihrotrofni rodovi bakterija, kao što su *Cytophaga* i *Flavobacterium*, se često nalaze u tankovima za hlađenje, ali se retko nalaze na trupovima. Psihrotrofne vrste bakterija koje se nalaze na pilećim trupovima odmah nakon klanja su obično *Acinetobacter* i pigmentisane pseudomonade. Iako sojevi nepigmentisanih *Pseudomonas* proizvode strane mirise i ukuse na pokvarenom živinskom mesu, u početnim fazama prerade, oni se teško nalaze na trupovima, a *P. putrefaciens* (*S. putrefaciens*) skoro nikada (Russell, 2010).

Hinton i sar. (2004) sproveli su istraživanja uticaja komercijalne prerade i čuvanja u uslovima frižidera na bakterije kvarenja trupova brojlera. Ošureni, očupani, očišćeni i ohlađeni trupovi nabavljeni su iz komercijalnog pogona za klanje, a broj psihrotrofa u mikrobioti je određen upotrebom podloge sa dodatkom gvožđa, *Pseudomonas* agara i *Streptomycin* agara sa dodatkom talijum acetata. Populacije bakterija kvarenja na obrađenim trupovima, čuvanim na 4 °C tokom 7, 10 ili 14 dana su određene. Analizom masnih kiselina, koje se u bakterijskoj ćeliji dominantno nalaze u citoplazminoj i spoljašnjoj membrani, primenom gasne hromatografije nakon esterifikacije masnih kiselina u metil-estre masnih kiselina, izvršena je identifikacija bakterijskih izolata. Na osnovu profila masnih kiselina napravljeni su dendrogrami, hijerarhijski dijagrami, koji omogućavaju utvrđivanje stepena srodnosti između bakterijskih izolata. Dobijeni rezultati su pokazali, da iako su neki koraci procesa povećali nivo kontaminacije trupova praćenim bakterijama, broj bakterija kvarenja sa obrađenih trupova je

bio značajno manji nego sa trupova koji su bili na početku proizvodne linije. *Acinetobacter* i *Aeromonas* spp. su bili primarni izolati dobijeni sa trupova iz proizvodne linije. Tokom skladištenja u frižideru, došlo je do značajnog porasta populacije bakterija na trupovima, gde su *Pseudomonas* spp. bile dominantne bakterije. Dendrogrami profila masnih kiselina izolata ukazali su da je dolazilo do bakterijske unakrsne kontaminacije trupova sa bakterijama kvara tokom svih faza prerade i da su neke bakterije mogle da prežive i da se razmnožavaju na trupovima tokom skladištenja u frižideru. Unakrsna kontaminacija je, čak detektovana između trupova koji su obrađivani različitim dana u istom pogonu (Hinton i sar., 2004). Rezultati ukazuju, da iako je proces prerade smanjio psihrotrofne bakterije kvarenja na trupovima duž proizvodne linije, javili su se značajni nivoi unakrsne kontaminacije, a bakterije koje su preživele proces obrade trupova su mogле da se razmnože na trupovima tokom skladištenja u frižideru (Russell, 2010).

Psihrotrofne bakterije mogu da prežive na procesnoj opremi, radnim površinama i podu pogona za preradu usled vode i ostataka hrane koji su im dostupni, a niske temperature u pogonima za preradu su od male koristi za inhibiranje rasta ovih bakterija. Odgovarajuće čišćenje i sanitacija procesne opreme i podova su neophodni za smanjivanje kontaminacije svežih proizvoda populacijama psihrotrofnih bakterija koje mogu da zaostanu u pogonima. Najčešći uzrok smanjenog roka trajanja svežeg živinskog mesa i njihovih prerađevina verovatno potiče usled neadekvatnih procedura čišćenja i sanitacije procesne opreme i podova pogona. Ispravna upotreba visokog pritiska, tople vode, sanitarnog sredstva odgovarajuće koncentracije, koje je efikasno protiv psihrotrofa je neophodno za održavanje adekvatnog roka trajanja proizvoda (Russell, 2010).

2.4.2.2 Proteolitički mikroorganizmi, uzročnici kvarenja

Proteaze, proteolitički enzimi, su enzimi koji hidrolitički razgrađuju proteine. Klasificuju se prema svojoj strukturi ili svojstvima aktivnog centra. Ima više vrsta proteaza od kojih su najčešći predstavnici: serin, metalo, karboksil, kisele, neutralne i alkalne (Sevinc i Demirkan, 2011).

Poznato je da nekoliko mikroorganizama koji rastu na mesa ili ribi izlučuju različite vanćelijske enzime koji razgrađuju okolni substrat izazivajući velika oštećenja mišića. Proteoliza, a nakon nje i proizvodnja sluzi pod aerobnim uslovima se pripisuje pseudomonadama i nastaje kada broj bakterija dostigne 10^7 do 10^8 cfu/g, a količina glukoze ili

glukonata se iscrpi. Korišćenjem gel elektroforeze ustanovljeno je, da se proteoliza u mesu ne može detektovati, bilo u mesu koje je veštački kontaminirano različitim bakterijama (na primer *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Brochothrix thermosphacta* i dr.) ili u prirodno kontaminiranom junećem mesu, sve dok ne postanu prisutni mirisi kvarenja ili dok ne dođe do formiranja bakterijske sluzi (Russell, 2010).

Odavno je identifikovano da su bakterije roda *Pseudomonas* jedni od glavnih uzročnika kvarenja pilećeg mesa. Identifikacija pseudomonasa u okviru poznatih vrsta je, međutim teža. U istraživanju Arnaut-Rollier i sar. (1999) izvedena su brojna taksonomska ispitivanja pseudomonasa izolovanih iz živinskog mesa. Kulture pseudomonasa su izolovane sa kože svežih brojlera i čuvani na sniženim temperaturama. Korišćene su numeričke taksonomske tehnike zasnovane na fenotipovima za karakterizaciju izolata i 36 referentnih sojeva. Statističko grupisanje je ukazalo na dominantnost četiri glavne *Pseudomonas* grupe: *P. fragi*, *P. lundensis*, sojevi koji pripradaju *P. fluorescens* biovara i nedefinisanu grupu sojeva koji pokazuju veliki stepen sličnosti sa *P. fluorescens* biovarovima. U okviru *P. fluorescens*, biovar A je bio najbolje reprezentovan. Markiran proteolitički karakter članova *P. fluorescens* bivarova A, B i C, kao i članova neidentifikovane grupe, ukazuje na njihovu verovatnu ulogu u nastajanju senzorskih nedostataka. U grupi *P. lundensis*, pronađena je izrazita grupa sojeva sličnih sa *P. lundensis*.

Producija proteolitičkih enzima od strane *P. fluorescens* je veća, kada se ova bakterija inkubira na nižim temperaturama. Određivanje kvaliteta mesa, kao i progresija kvarenja mesa na površini, ogleda se u merenju proizvodnje slobodnih amino-kiselina, kao rezultata proizvodnje amino-peptidaza i posledičnog razlaganja proteina (Russell, 2010).

U radu Lee i sar. (2017) je pokazano da bez obzira na vrstu pilećeg mesa (na primer, celi trup ili grudi) i temperature skladištenja (4 i 10 °C), *Pseudomonas weihenstephanensis* i *Pseudomonas congelans* su bile najizraženije vrste. U mesu pilećih grudi izražene su bile bakterije *Serratia* spp., dok na celom trupu to su bile bakterije *Acinetobacter* spp. Od 118 izolovanih sojeva psihrotrofnih bakterija, 58,48% su bile *Pseudomonas* spp., 10,17% su bile *Serratia* spp. i 6,78% su bile *Morganella* spp. Sve izolovane bakterije su dobro rasle na temperaturi od 10 °C i ispoljavale su različite proteolitičke aktivnosti u zavisnosti od vrste i soja. Oko dve trećine *Pseudomonas* spp. ispoljilo je neki oblik proteolitičke aktivnosti, dok su najviše aktivnosti zapažene kod *Serratia* spp. i *Aeromonas* spp., koje su mogle da hidrolizuju proteine u pločama. *Morganella* spp. nisu pokazale proteolitičku aktivnost, prikazano u tabeli 2.3.

Tabela 2.3 Proteolitička aktivnost psihrotrofnih bakterija izolovanih sa pilećeg mesa
(Lee i sar., 2017)

Psihrotrofne bakterije	Podloga sa kazeinom	
	Prisutna proteolitička aktivnost	Ukupno izolovano
<i>Pseudomonas</i> spp.	39	69
<i>Serratia</i> spp.	12	12
<i>Morganella</i> spp.	0	8
<i>Aeromonas</i> spp.	6	6
Ostale bakterije	5	23
Ukupno	62	118

U tabeli 2.4 prikazane su različite vrste metoda za određivanje aktivnosti svih tipova proteolitičkih enzima, sa naznačenim primenjenim reagensima.

Tabela 2.4 Metodi za određivanje aktivnosti proteolitičkih enzima (Němečková i sar., 2009)

Metod	Primjenjeni reagensi
Spektrofotometrija	N-sukcinil-L-alanil-L-fenilalaninl-L-lizin-7-amido-4-metilkumarin
	N-sukcinil-alanil-prolil-fenilalaninl-p-nitroanilid
	Albumin goveđeg seruma
	D-valil-L-leucil-L-lizin-p-nitroanilid dihidrochlorid
	Azo-kazein
Fluorimetrija	Fluorescin-tio-karbamoil-β-kazein
Luminometrija	Metod bioluminescencije sa luciferazom
Imunoenzimski	Imuno enzimski (“enzyme-linked immunosorbent assay” - ELISA) test koji otkriva proteine
Metod ploče	Test pojave zone prosvjetljenja oko bakterijske kolonije na ploči sa agarom

2.5 BIOGENI AMINI

Biogeni amini predstavljaju organske baze niske molekulske mase s biološkom aktivnošću koji se sintetišu ili metabolišu u ćelijama živih organizama (životnjama, biljkama i mikroorganizama). Nalaze se u različitim vrstama fermentisane hrane i pića poput vina, sira, piva, kobasica, ribljih proizvoda i mesa kao posledica dekarboksilacije amino-kiselina što se povezuje sa kvarenjem hrane i pića, a takođe se pojavljuju i u nefermentisanoj hrani kao rezultat nepoželjne mikrobiološke aktivnosti (Mendes, 2009).

Najvažniji biogeni amini koji se nalaze u hrani su histamin, tiramin, putrescin, kadaverin, β -feniletilamin, agmatin, triptamin, serotonin, spermidin, i spermin. Ovi amini klasifikovani su prema svojoj hemijskoj strukturi kao aromatični amini (histamin, tiramin, serotonin, feniletilamin i triptamin), alifatični diamini (putrescin i kadaverin) i alifatični poliamini (agmatin, spermidin i spermin) (Ruiz-Capillas i Herrero, 2019).

2.5.1 Nastajanje biogenih amina

Ukoliko se namirnica životinjskog porekla izloži uslovima pogodnim za rast i razvoj mikroorganizama, za očekivati je da će doći do nastanka biogenih amina, koji se pridružuju već prisutnim fiziološkim aminima. Biogeni amini koji se nalaze u namirnicima životinjskog porekla predstavljaju rezultat delovanja egzogenih enzima, koji se oslobođaju iz različitih mikroorganizama, međutim postupak dekarboksilacije odvija se i endogenim enzimima, koji se prirodno nalaze u mesu, ali mnogo manje u odnosu na egzogene enzime (Šimat, 2010). Krajnji sadržaj različitih amina zavisi od više faktora među kojima su karakteristike sirovine (sastav, pH), vrste mikroorganizama (dekarboksilazna aktivnost uglavnom se pripisuje sledećim familijama: Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae i Micrococcaceae, kao i bakterijama mlečne kiseline) i uslovi prerade i skladištenja proizvoda (svež, osušen, fermentisan, ohlađen, pakovan u modifikovanoj atmosferi). Ovi faktori nemaju pojedinačna dejstva, već zajedno deluju i utiču na krajnju koncentraciju biogenih amina u namirnicama. Stoga, da bi se obezbedio kvalitet hrane sa aspekta količine prisutnih biogenih amina, neophodno je koristiti odgovarajuće sirovine radi smanjenja količina biogenih amina u krajnjem proizvodu, obezbeđujući na taj način bolji kvalitet. Važno je napomenuti da su biogeni amini termostabilni, odnosno ukoliko nastanu u jednoj fazi proizvodnje, teško se mogu uništiti naknadnim tehnološkim procesima

(kao što su pasterizacija, kuvanje i sl.) što ukazuje da ukoliko su prisutni u sirovini ili poluproizvodu, oni će se naći i u gotovom proizvodu (Ruiz-Capillas i Herrero, 2019).

U slučaju mikroorganizama, kao faktora koji deluju na formiranje biogenih amina, neophodno je kontrolisati ne samo njihov ukupan broj, već i vrste mikrobiota koje su prisutne, a koji dalje zavise od faktora karakterističnih za sirovinu, uslove prerade i skladištenja. Svi ovi uslovi, direktno ili indirektno, utiču na supstrat i koncentracije enzima i određuju prisustvo ostalih jedinjenja ili uslova (pH, temperatura i a_w) koje mogu da pogoduju dekarboksilaznoj aktivnosti. Stoga, mnogi faktori moraju da se sagledaju, posebno faktori vezani za primenjen tehnološki proces (topljeni tretmani, dodaci, fermentacija, hlađenje, pakovanje i sl.). Tehnološki proces fermentacije, uglavnom dovodi do stvaranja biogenih amina, tako da fermentisani proizvodi od mesa sadrže najveće količine i najveću raznovrsnost ovih jedinjenja. Ovo je posledica nekoliko faktora: vrste sirovina i temperature medijuma (koji obezbeđuju uslove za rast starter kultura), prisustvo i koncentracija dodataka, kao što su: šećer, so, antimikrobnii agensi i sl., prisutni mikroorganizmi. Velika brojnost mikroorganizama u ovim proizvodima, praćenih proteolizom, dovode do povećanja koncentracija amino-kiselina. Ove amino-kiseline čine supstrat neophodan bakterijama za aktivnost dekarboksilasnih enzima (Ruiz-Capillas i Herrero, 2019).

Temperatura skladištenja gotovog proizvoda je takođe jedan od ključnih faktora u formiranju biogenih amina. Temperature zamrzavanja inhibiraju rast mikroorganizma, pa stoga i produkciju biogenih amina. Sa druge strane, skladištenje na višim temperaturama frižidera ($>5^{\circ}\text{C}$ za sveže meso) ili loša kontrola temperature skladištenja, pogoduju rastu mikroorganizma u proizvodima, koji rezultuju porastom proteolize u mišićnom tkivu i porastu količine dekarboksilasnih enzima (Ruiz-Capillas i Herrero, 2019).

2.5.2 Histamin

Histamin je veoma važna supstanca, koja je neophodna za efikasno funkcionisanje mnogih sistema organizma. Predstavlja neurotransmiter (supstanca koja prenosi poruke između ćelija nervnog sistema), uključena je u regulaciju želudačne kiseline, propustljivosti krvnih sudova, kontrakcije mišića i funkcije mozga. Ima ključnu ulogu u patogenezi mnogih oboljenja, ne samo alergijskih, već i autoimunih, kao što je reumatoidni artritis. Pored endogenog nastajanja, histamin se u organizam može uneti i iz egzogenih izvora, konzumirajući određene

vrste namirnica, u kojima se histamin nalazi u visokim koncentracijama (Kovacova-Hanuskova i sar., 2015).

Histamin nastaje bakterijskom dekarboksilacijom slobodne amino-kiseline histidina pod delovanjem enzima L-histidin dekarboksilaze (HDC). Taj enzim je jedan od važnijih enzima u metabolizmu proteina, jer učestvuje u razgradnji histidina, esencijalne amino-kiseline, koji se nalazi u sastavu većine proteinskih namirnica. Histamin je termostabilan, opstaje na temperaturi od 120 °C tokom 30 minuta. Dokazano je da se ne uništava niti dimljenjem ili nekim drugim načinima konzervisanja mesa i ribe (Vranešić i sar., 2010).

Do 2004. godine smatralo se, da su isključivo mezofilne bakterije uzročnici histaminskog trovanja, što je dovelo do nedoumice vezane za nastanak histamina pri nižim temperaturnim intervalima od 7 do 10 °C. Iz mesa ribe, kao i iz mesa koje je skladišteno na 0 °C, izolovane su psihofilne bakterije (*Morganella psychrotolerans* i *Photobacterium phosphoreum*), koje sintetišu histamin. Danas je poznato da i mezofilne bakterije (*Hafnia alvei*, *Clostridium perfringens*, *Morganella morganii*, i *Raoultella planticola*) kao i psihofilne bakterije, imaju sposobnost proizvodnje toksičnih koncentracija histamina kao i ostalih biogenih amina u mesu, ribi i time dovesti do trovanja (Dalgaard i Emborg, 2009).

Ostali biogeni amini koji su značajni u toksikološkom smislu, jer podstiču negativno dejstvo samog histamina, su: putrescin, kadaverin, tiramin, β-feniletilamin (Bulushi i sar., 2009).

U Izveštaju Sistema za brzo obaveštavanje i uzbunjivanje za hranu i hranu za životinje Evropske Komisije (“The Rapid Alert System for Food and Feed”) nije bilo upozorenja na histamin ili neke druge biogene amine u mesu ili proizvodima od mesa, uključujući i pileće meso u 2018. godini (European Commission, 2019).

Sadržaj biogenih amina u hrani može da se odredi različitim brzim i tačnim analitičkim metodima. Koriste se tradicionalni kolorimetrijski i fluorometrijski metodi, gde se histamin uglavnom određuje individualno, kao što je i slučaj sa brzim komercijalnim kitovima koji se zasnivaju na ELISA testovima za detekciju histamina u ribi. Za mogućnost određivanja simultane detekcije više biogenih amina koriste se hromatografski metodi kao što su: gasna hromatografija i gasna hromatografija - masena spektrometrija, tečna hromatografija pod visokim pritiskom (“High Pressure Liquid Chromatography” - HPLC), HPLC zajedno sa masenom spektrometrijom, protočna injekciona analiza, kapilarna elektroforeza i dr. (Ruiz-Capillas i Herrero, 2019).

U SRPS EN ISO 19343:2017 standardu propisan je HPLC metod za otkrivanje i kvantifikovanje histamina u ribi i proizvodima od ribe. Prednost ove tehnike ogleda se u

mogućnosti analize više biogenih amina u isto vreme, priprema uzorka je jednostavna, a tehnika omogućava visok nivo razdvajanja, osetljivosti i raznovrsnosti analiziranih jedinjenja. HPLC metod određivanja biogenih amina sastoji se iz dve faze: prve, u kojoj se ekstrahuju biogeni amini iz uzorka i druge faze – određivanja vrste biogenih amina.

2.6 OKSIDATIVNE PROMENE NA LIPIDIMA MESA

2.6.1 Oksidacija lipida

Oksidacija lipida, jedna je od najbitnijih kompleksnih reakcija u hemiji lipida. Veliki broj naučnih istraživanja potvrđuje da oksidacija lipida nastaje usled prisustva slobodnih radikala, kao uzročnika ove reakcije. Veoma lako dolazi do oksidacije lipida u mesu i proizvodima od mesa i ova reakcija predstavlja jedan od glavnih uzroka kvarenja u toku različitih faza, od procesa proizvodnje, skladištenja do distribucije mesa i proizvoda od mesa (Visessanguan i sar., 2006; Olivares i sar., 2009; Petrović i sar., 2010; Zhao i sar., 2011).

Nastali produkti oksidacije, prisutni čak i u veoma malim količinama, mogu dovesti do smanjenja održivosti i ubrzanja procesa kvarenja mesa i proizvoda od mesa. Posledično dolazi do smanjenja nutritivne vrednosti proizvoda, gubitka senzorskih svojstava (mirisa i ukusa i boje) kao i nagomilavanja toksičnih jedinjenja štetnih po zdravlje ljudi (Ansorena i Astiasarán, 2004).

Malondialdehid (MDA), je osnovni degradacioni proizvod lipidnih peroksida, te se stoga koristi kao marker za određivanje stepena sekundarnih oksidativnih promena na lipidima mesa (Petrović i sar., 2010). MDA takođe predstavlja i značajan pokazatelj kvaliteta mesa i proizvoda od mesa, jer se njegovo nastajanje vezuje za pojavu užegnuća u mesu i proizvodima od mesa (Wenjiao i sar., 2013).

Stepen sekundarnih oksidativnih promena na lipidima u mesu i proizvodima od mesa najčešće se utvrđuje metodom određivanja sadržaja malondialdehida pomoću 2-tiobarbiturne kiseline (TBARS). Ovaj metod se zasniva na spektrofotometrijskom određivanju ekstrahovanog malondialdehida, on je jednostavan i ima visok stepen korelacije sa senzorskom ocenom kvaliteta (Ross i Smith, 2006; Papastergiadis i sar., 2012).

2.6.2 Antioksidansi

Antioksidansi predstavljaju supstance koje u malim količinama usporavaju proces oksidacije i razlaganja proizvoda oksidacije lipida i proteina i na taj način omogućavaju očuvanje nutritivnih i senzorskih karakteristika proizvoda i povećanje njihove održivosti (Karre i sar., 2013).

Pravi antioksidansi predstavljaju jedinjenja koja inhibiraju reakciju oksidacije sa lipidnim slobodnim radikalima, a kao rezultat nastaju neaktivni proizvodi. Antioksidansi najčešće reaguju sa produktima razlaganja lipidnih hidroperoksida (peroksi i alkaksi slobodni radikali). Ostali inhibitori sprečavaju razlaganje lipidnih peroksida na slobodne radikale, omogućavajući time njihovu stabilnost (Mandić, 2007). Ranije su se koristili sintetski antioksidanti u mesnim proizvodima, kao što su: butilhidroksianizol, butil-hidroksitoluen, propilgalat i terc-butilhidrohinon (Karre i sar., 2013), međutim usled mogućih toksičnih svojstva, sve više se upotrebljavaju prirodni antioksidanti (Šojić i sar., 2015; 2017). U naučnim istraživanjima dosta pažnje je posvećeno ispitivanju mogućnosti izdvajanja antioksidanata iz otpadnih materija u prehrambenim industrijama, kao što je melasa šećerne repe (Moure i sar., 2001). Melasa predstavlja bogat izvor bitnih nutrijenata, i uz značajan antioksidativni potencijal, može uticati na poboljšanje funkcionalnosti, bezbednosnog i zdravstvenog aspekta hrane u koju se dodaje (Takara i sar., 2007; Guimarães i sar., 2007).

Nosioci antioksidativne aktivnosti u melasi su: betain, koji je prisutan u količini do 6% i holin, koji je prisutan u količini manjoj od 1%. Betain obezbeđuje prevođenje homocisteina u metionin, donirajući metil grupu. Poznata je činjenica da visoke koncentracije homocisteina utiču kao jedan od najznačajnijih faktora rizika za oksidativni stres, što može dovesti do kardiovaskularnih oboljenja (Barak i sar., 2003). Holin, kao prekursor betaina, takođe ima ulogu u odbrani organizma od oksidacionog stresa (Ganesan i sar., 2007).

Antioksidativne komponente koje se nalaze u melasi, pored betaina i holina, potiču ili iz šećerne repe (kao što su fenolna jedinjenja), ili mogu da nastanu u toku procesa proizvodnje šećera (kao što su obojeni proizvodi Maillard-ovih reakcija, odnosno melanoidini, ili proizvodi toplotne ili alkalne razgradnje šećera) (Guimarães i sar., 2007). Produkti neenzimskog tamnjenja (melanoidini), stvaraju se pri proizvodnji šećera, kao produkti velikog broja reakcija amino-kiselina sa redukujućim šećerima. U melasi zaostaju velike koncentracije ovih jedinjenja, od malih organskih jedinjenja do kompleksnih aromatičnih polimera (Valli i sar., 2012). Istraživanjima Borrelli i sar. (2002) i Milutinović i sar. (2013) dokazano je da,

melanoidini poseduju značajne antioksidativne i antimikrobne sposobnosti, sprečavaju oksidaciju lipida i da sveukupno deluju povoljno na odbrambene sisteme živih organizama.

2.6.2.1. Određivanje sposobnosti neutralizacije DPPH radikala

Jedan od osnovnih skining metoda za određivanje antioksidativnih karakteristika vodenih ekstrakata uzoraka jeste neutralizacija DPPH radikala. Ovaj metod se zasniva na reakciji antioksidansa sa slobodnim DPPH radikalom (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) tako što mu donira slabo vezan atom vodonika iz hidroksilne grupe polifenola, na taj način prevodeći ga u stabilnu formu DPPH-H (2,2-difenil-1-pikrilhidrazin). Ovim postupkom zaustavlja se lančana reakcija i prekida oksidacija lipida. Ovo je najčešći način antioksidativne zaštite prirodnih sekundarnih metabolita. Obzirom da se apsorpciona traka DPPH radikala nalazi u blizini 520 nm, rastvor ovog molekula ima intenzivno ljubičastu boju. Reakcijom redukcije u prisustvu molekula koji imaju elektron-donorske grupe i koje „daju“ svoje labilne H atome molekulu DPPH, dolaz do izmene u strukturi molekula i pomeranja maksimuma apsorpcije u oblast oko 350 nm, što za posledicu ima promenu boje rastvora redukovanih oblika u žutu boju. Intenzitet obezbojavanja pokazuje antioksidativni potencijal uzorka (Loganayaki i sar., 2013).

2.7 METOD ODZIVNE POVRŠINE

Metod odzivne površine [("Response Surface Methodology" (RSM)] je efikasan statistički alat koji može da se iskoristi za optimizaciju različitih tehnoloških procesa, kao što je i osmotska dehidratacija. Glavna prednost ovog metoda je što je neophodan manji broj eksperimentalnih rezultata da bi se obezbedio dovoljan broj ulaznih podataka za dobijanje statistički validnih rezultata. Metod odzivne površine jedan je od najčešće korišćenih alata za statistički planirane eksperimenata. Ovaj metod se može opisati kao empirijski statistički alat primjenjen za regresionu analizu rezultata koji su dobijeni iz odgovarajućih, planiranih eksperimenata, uz simultano rešavanje sistema jednačina (Myers i Montgomery, 2002).

Svaka od razvijenih jednačina zove se funkcija odziva, dok se njen geometrijski prikaz zove odzivna površina (Brereton, 2003).

Odzivne funkcije su polinomskog oblika, gde se nivo kvaliteta fitovanja eksperimentalnih podataka može povećati povećanjem stepena polinoma. Ovakvi modeli su obično koriste za rešavanje problema optimizacije, sa obzirom da je pomoću njih moguće

opisati interakciju velikog broja parametara. Lako se određuje i procena kvaliteta fitovanja polinomskega modela. Za definisanje statističke značajnosti pojedinih parametara obično se koristi ANOVA test, odnosno analiziraju se t-vrednosti svakog koeficijenta polinoma, koje ukazuju da li su faktori značajni, odnosno koje su interakcije bitne za posmatrani odziv (Jokić, 2010).

Polinom prvog reda je najjednostavniji oblik polinoma koji se može primeniti i on uzima u obzir samo linearne uticaje posmatranih faktora:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 \quad [2.4]$$

gde su: Y praćeni odziv, X_1 i X_2 nezavisno promenljive, a β_0 , β_1 i β_2 regresioni koeficijenti.

Polinom drugog reda neophodno je koristiti za opisivanje odabranih odziva, ukoliko se za krajnji cilj primene ovog statističkog alata želi pronaći optimalno rešenje:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 \quad [2.5]$$

gde su: Y praćeni odziv, X_1 i X_2 nezavisno promenljive, a β_0 , β_1 , β_2 , β_{11} , β_{22} i β_{12} regresioni koeficijenti. U ovom slučaju, svaki od posmatranih faktora mora da ima bar tri nivoa vrednosti (Jokić, 2010).

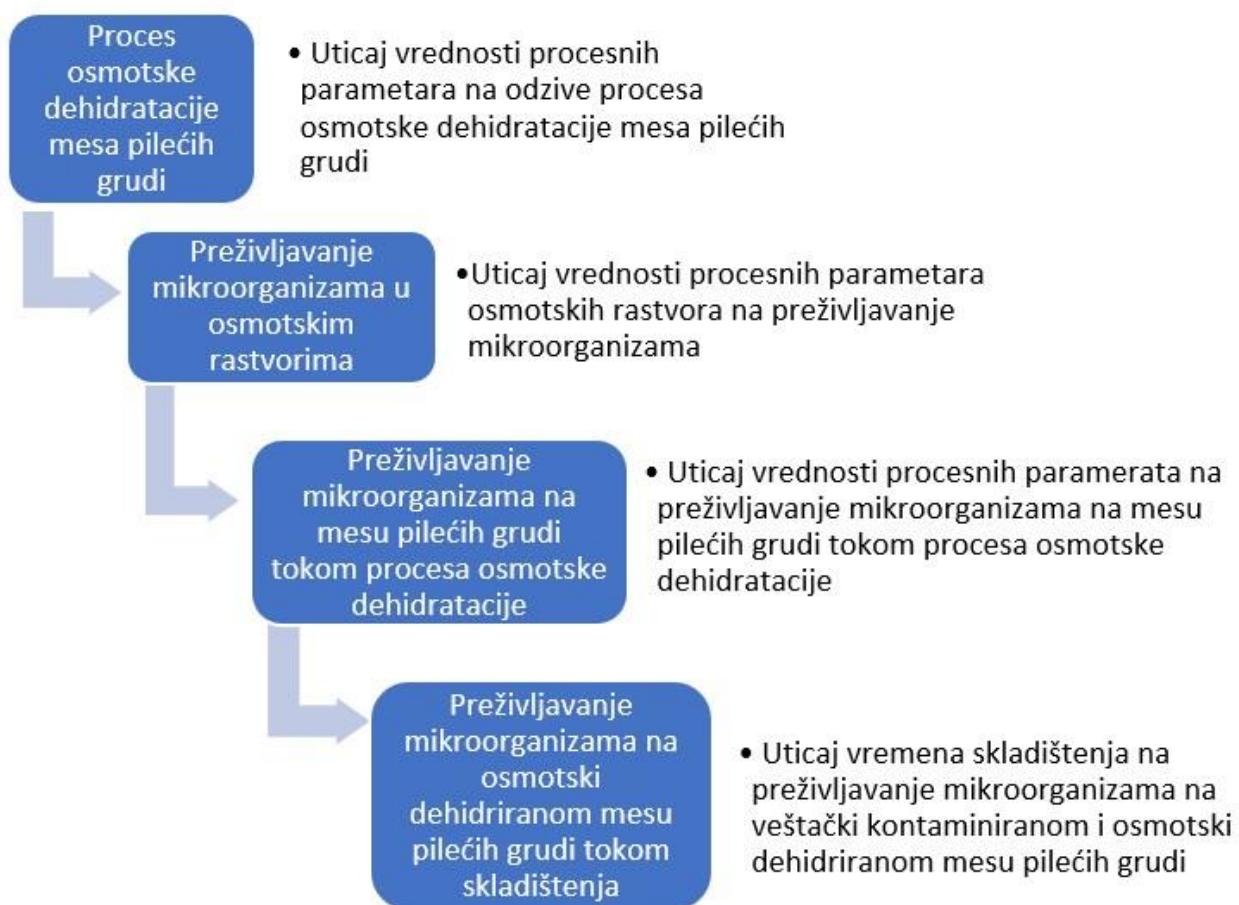
U istraživanjima, najčešće se koriste sledeći eksperimentalni planovi: Box-Behnken dizajn, centralni kompozitni plan, potpuni eksperimentalni plan i dr. (Bezerra i sar., 2008).

3. MATERIJAL I METODI

Mesta istraživanja doktorske disertacije su bila:

- laboratorije Tehnološkog fakulteta Novi Sad, Univerziteta u Novom Sadu i
- akreditovana laboratorijska SP laboratorijska a.d. Bečej.

U navedenim laboratorijama pripremani su svi uzorci, sproveđeni postupci osmotskih dehidratacija i rađene mikrobiološke i hemijske analize na uzorcima osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi, a na svežem mesu su rađene samo mikrobiološke analize. Eksperimentalno istraživanje je bilo podeljeno u četiri dela i šematski je prikazano na slici 3.1.



Slika 3.1 Šematski prikaz eksperimentalnog dela doktorske disertacije

3.1 MATERIJAL

U ovom poglavlju prikazane su sirovine korišćene u procesu osmotske dehidratacije, za pripremu osmotskih rastvora, kao i mikroorganizmi koršćeni za inokulaciju osmotskih rastvora i mesa pilećih grudi.

3.1.1. Sirovina za osmotsku dehidrataciju

Sirovina na kojoj su sprovedena istraživanja je meso pilećih grudi, koje je za potrebe ispitivanja, kupovano iz iste lokalne prodavnice, prethodno zaklano, ohlađeno i skladišteno na temperaturi frižidera.

Sve radne površine i alati koji su korišćeni u pripremi uzoraka od svežeg mesa pilećih grudi i osmotskih rastvora, temeljno su očišćeni, oprani i dezinfikovani farmaceutskim etanolom koncentracije 70% v/v. Komadno meso pilećih grudi usitnjeno je ručno na komade oblika kocke, približnih dimenzija 1×1×1 cm.

3.1.2. Sirovine za osmotske rastvore

Za potrebe pripreme osmotskih rastvora korišćene su sledeće sirovine:

- Natrijum-hlorid (NaCl), komercijalni proizvod, „so za ljudsku ishranu”, koji je kupovan u lokalnoj prodavnici;
- Saharoza, komercijalni proizvod, „šećer za ljudsku upotrebu”, kupovana u lokalnoj prodavnici;
- Melasa šećerne repe u daljem tekstu melasa, sadržaja suve materije 85,04%, nabavljena iz šećerane u Crvenki. Pre upotrebe u procesu osmotske dehidratacije, melasa je čuvana na sobnoj temperaturi u zatvorenim plastičnim posudama. Osnovni hemijski sastav korišćene melase, utvrđen u prethodnim istraživanjima (Filipović, 2013), prikazan je u tabeli 3.1. Poznato je da se hemijski sastav melase menja u retkim slučajevima, gde dolazi do pojave zagrevanja i penjenja (Olbrich, 1963) što nije bio slučaj sa korišćenom melasom;
- Destilovana voda.

Tabela 3.1 Osnovni hemijski sastav melase korišćene u istraživanju (Filipović, 2013)

Sadržaj	
Suva materija (%)	85,04
Voda (%)	14,96
Proteini (% s. m.)	10,15
Ukupni fosfati (% s. m.)	0,28
Ukupni pepeo (% s. m.)	8,46
Masti (% s. m.)	0,10
Natrijum-hlorid (% s. m.)	0,06
Saharoza (% s. m.)	49,11
Kalijum (mg/100 g)	3311,96
Natrijum (mg/100 g)	368,15
Magnezijum (mg/100 g)	39,69
Gvožde (mg/100 g)	5,32
Kalcijum (mg/100 g)	296,22

Osmotski rastvor NaCl i saharoze u vodi u daljem tekstu - vodenim rastvorom, pripremljen je na sledeći način:

350 g soli za ljudsku ishranu rastvoreno je u potpunosti uz upotrebu električne mešalice (Talboys Instrument Corp. Emerson, N.J., USA), u 1 l destilovane vode, a zatim je dodato 1200 g šećera za ljudsku upotrebu, koji je rastvoren u drugoj fazi mešanja, takođe uz upotrebu električne mešalice (Colligan i sar., 2001; Qi i sar., 1998).

Ovako pripremljen vodenim rastvorom, maksimalne koncentracije suve materije od 60%, razblaživan je destilovanom vodom do koncentracije suve materije od 52,5%, odnosno dodavanjem vode u rastvor NaCl i saharoze u masenom odnosu 1:7 i do koncentracije suve materije od 45%, odnosno dodavanjem vode u rastvor NaCl i saharoze u masenom odnosu 1:3. Ovaj isti odnos mase vode i osmotskog rastvora (1:7 i 1:3) za potrebe variranja koncentracija osmotskih rastvora, korišćen je i pri pripremi razblaženja osmotskog rastvora melase. Na taj način ostvarena su ekvivalentna razblaženja između različitih osmotskih rastvora, odnosno oba osmotska rastvora su razblažena jednakom količinom destilovane vode.

Melase je inicijalno razblažena od početne koncentracije melase na 80% sadržaja suve materije, a zatim za potrebe ispitivanja uticaja koncentracije rastvora na proces, razblaživana do koncentracije suve materije od 70 i 60%, odnosno dodavanjem destilovane vode u melasu u odnosima 1:7 i 1:3; kao što je bio slučaj sa vodenim rastvorom.

Vodenim rastvorom i melasa korišćeni su, kao osmotski rastvori, u sva četiri dela istraživanja.

Korišćen odnos mase mesa pilećih grudi i osmotskih rastvora od 5:1, odabran je iz razloga sprečavanja prekomernog razblaženja osmotskog rastvora usled migracije vode iz mesa

koje se dehidrira i omogućavanja konstantnih uslova koncentracije osmotskih rastvora tokom celog trajanja procesa osmotske dehidratacije (Filipović i sar., 2012).

3.1.3. Mikroorganizmi za inokulaciju

Za inokulaciju oba osmotska rastvora kao i svežeg mesa pilećih grudi koje je podvrgavano procesu osmotske dehidratacije korišćeni su sledeći referentni sojevi kultura, koji se koriste u ispitivanju performansi mikrobioloških podloga, kako od strane proizvođača dehidriranih podloga, tako i krajnje korisničke laboratorije:

- *Escherichia coli* ATCC 25922, snažan proizvođač β-D-glukuronidaze,
- *Escherichia coli* ATCC 8739,
- *Listeria monocytogenes* ATCC 19111 (serotip 1/2a),
- *Listeria monocytogenes* ATCC 13932 (serotip 4b),
- *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 i
- *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076.

Čuvanje i održavanje referentnih kultura nabavljenih iz komercijalnih izvora (Microbiologics, Minesota, USA) je urađeno u skladu sa SRPS EN ISO 11133:2015. Referentne kulture su dostavljene u liofilizovanom stanju i do momenta aktivacije su skladištene u frižideru na temperaturi od +4 °C. Nakon otvaranja pakovanja, pripremljene su subkulture, u skladu sa uputstvom proizvođača, i skladištene na kosom hranljivom agaru (Himedia, Mumbaj, Indija), u frižideru na temperaturi od +4 °C. Jednom nedeljno kulture su osvežavane zasejavanjem na novom kosom hranljivom agaru istog proizvođača, a nakon 28 dana su bezbedno uklanjane. Radne kulture su pripremane iz odgovarajućih subkultura zasejavanjem na hranljivom agaru i inkubiranjem u termostatu (Hotcold-B, Selecta, Španija) na 37 °C tokom 18-24 časova.

Deo (jedna ili više kolonija) radne kulture ispitivanog mikroorganizma, stare 24 časa, je prebačen pod aseptičnim uslovima, uz pomoć mikrobiološke petlje (eze) u epruvetu sa sterilnim fiziološkim rastvorom i suspendovan intenzivnim homogenzovanjem na Vortex mešalici (Velp Scientifica, Uzmate Velate, Italija). Pomoću denzitometra (DEN-1, Biosan, Riga, Letonija) gustina suspenzije je podešena da odgovara vrednosti 2 McFarland standarda, što predstavlja procenjenu koncentraciju bakterija od oko 6×10^8 cfu/ml. Na ovaj način je pripremljena inicijalna suspenzija. Iz inicijalne suspenzije sa ispitivanim mikroorganizmima,

pripremljena je serija decimalnih razređenja u sterilnom fiziološkom rastvoru, a 1 ml odabranih razređenja je prebačen u petrijevke i izmešan sa Tripton Soja (TSA) agarom (Himedia, Mumbaj, Indija), u cilju određivanja broja mikroorganizama u inokulumu.

3.2 POSTUPAK EKPERIMENTALNIH OGLEDA

3.2.1 Uticaj vrednosti procesnih parametara na odzive procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi

Proces osmotske dehidratacije izvođen je u staklenim laboratorijskim čašama od 1000 ml, a početne mase uzoraka (kocki) svežeg mesa pilećih grudi od 50 g. Uzorci svežeg mesa pilećih grudi postavljeni su u osmotske rastvore (vodeni rastvor, melasa), određenih koncentracija, na definisanim temperaturama procesa (20, 32 i 44 °C) koje su održavane konstantnim u termostatu (KMF 115 l, Binder, Germany), tokom celog trajanja procesa od 5 časova. Svi procesi osmotske dehidratacije su sprovedeni na atmosferskom pritisku.

Uslovi homogenizacije osmotskog rastvora (ručno mešanje, jednakog intenziteta i trajanja na svakih 15 minuta) su bili isti za sve rastvore, pri svim temperaturama procesa i koncentracijama osmotskih rastvora, u cilju mogućnosti upoređenja dobijenih rezultata.

Nakon 1, 3 i 5 časova osmotske dehidratacije, uzorci dehidriranog mesa pilećih grudi vađeni su iz osmotskog rastvora, i nakon otkapljavanja viška osmotskog rastvora na filter hartiji, odmeravani na vagi. Iz dela uzoraka dehidriranog mesa pilećih grudi određivan je sadržaj suve materije.

3.2.2 Uticaj vrednosti procesnih parametara osmotskih rastvora na preživljavanje mikroorganizama

U drugom delu istraživanja određen je početni mikrobiološki profil za oba osmotska rastvora u skladu sa standardnim SRPS EN ISO metodima (SRPS ISO 16649-2:2008, SRPS ISO 11290-2:2017, SRPS EN ISO 6579-1:2017, SRPS EN ISO 21528-2:2017 i SRPS EN ISO 4833-1:2014) i on je iznosio: *E. coli*: <10 cfu/g; *L. monocytogenes*: <10 cfu/g; *Salmonella* spp.: negativno u 25 g; Enterobacteriaceae: <10 cfu/g; za oba osmotska rastvora; a ukupan broj bakterija (UBB) je iznosio: <10 cfu/g za vodeni rastvor i 70 cfu/g za melasu. Granica

kvantifikacije svakog standardnog ISO metoda iznosio je <10 cfu/g, koja je korišćena za brojanje ispitivanih mikroorganizama, dok je granica detekcije za *Salmonella* spp. iznosila <1 cfu u 25 g.

Odmereno je 100 g svih uzoraka osmotskih rastvora i inokulisani su mešavinom referentnih kultura: *E. coli* ATCC 25922 i ATCC 8739, mešavine *L. monocytogenes* ATCC 19111 i 13932 i mešavine *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. Enteritidis* ATCC 13076,

Svi uzorci osmotskih rastvora su inokulisani sa po 1 ml iz 10^{-2} razređenja svakog od 6 referentnih sojeva, u cilju dobijanja broja bakterija od približno 60.000 cfu/ml svakog pojedinačnog referentog soja, tj. broja bakterija od približno 120.000 cfu/ml mix smeše svake od 3 vrste test mikroorganizma: *E. coli*, *L. monocytogenes* i *Salmonella* spp.,

Nakon kontaminacije, osmotski rastvori su homogenizovani i uzeti su uzorci za analizu ispitivanih mikroorganizama u početnom vremenu procesa (0 h).

Svi inokulisani osmotski rastvori su postavljeni u termostat na temperaturama od 20, 32 i 44 °C, i homogenizovani su pomoću štapića svakih 15 minuta. Nakon isteka vremenskog perioda od 30 minuta, 1, 2, 3 i 5 časova, iz inokulisanih osmotskih rastvora su uzeti uzorci za analizu sledećih mikroorganizama: *E. coli*; *L. monocytogenes*; *Salmonella* spp.; Enterobacteriaceae i UBB.

3.2.3 Uticaj vrednosti procesnih parametara na preživljavanje mikroorganizama na mesu pilećih grudi tokom procesa osmotske dehidratacije

U trećem delu istraživanja određen je početni mikrobiološki profil za oba osmotska rastvora i rezultati su bili isti kao i drugom delu istraživanja (poglavlje 3.2.2).

Mesu pilećih grudi, čija je priprema opisana u poglavlju 3.2.1, određen je početni mikrobiološki profil u skladu sa standardnim SRPS EN ISO metodima (SRPS ISO 16649-2:2008, SRPS ISO 11290-2:2017, SRPS EN ISO 21528-2:2017 i SRPS EN ISO 6579-1:2017) koji je iznosio: <10 cfu/g za sve ispitivane mikroorganizme: *E. coli*, *L. monocytogenes* i Enterobacteriaceae i negativno u 25 g za *Salmonella* spp.

Pomoću denzitometra (DEN-1, Biosan, Latvia) gustina suspenzije je podešena da odgovara vrednosti 0,5 McFarland standarda, što predstavlja koncentraciju bakterija od 150×10^6 cfu/ml. Na ovaj način pripremljena je inicijalna suspenzija svakog pojedinačnog test mikroorganizma. Nakon toga, iz inicijalnih suspenzija za svaki pojedinačni test

mikroorganizam, pripremljena je inokulaciona suspenzija, koja predstavlja smešu sva tri ispitivana test mikroorganizma (*E. coli*, *L. monocytogenes* i *Salmonella* spp.). Svaka kocka uzorka mesa pilećih grudi (mase od oko 1 g) inokulisana je sa 0,1 ml iz 10^{-2} razređenja pripremljene inokulacione suspenzije, u cilju dobijanja približno 150.000 cfu/g svih odabranih test mikroorganizama, odnosno, 50.000 cfu/g po ispitivanom test mikroorganizmu. Nakon toga su uzorci mesa pilećih grudi ostavljeni 60 minuta na sobnoj temperaturi (Pichpol, 2009) kako bi se što bolje test mikroorganizmi adherirali na površinu veštački kontaminiranih uzoraka mesa pilećih grudi. Nakon adheriranja mikroorganizama, deo kontaminiranih kockica mesa je podvrgnut procesu osmotske dehidratacije, a deo kockica je pripreman za mikrobiološku analizu prema odgovarajućem standardu za pripremu uzoraka mesa, SRPS EN ISO 6887-2:2017.

Proces osmotske dehidratacije inokulisanih uzoraka mesa pilećih grudi se izvodio po postupku opisanom u poglavlju 3.2.1, na jednoj temperaturi procesa od 32 °C u termostatu, vremenima trajanja procesa od 0,5; 1; 2; 3 i 5 časova i na masi inokulisanog mesa pilećih grudi od 30 g, za svako vreme trajanja procesa. Nakon isteka definisanih vremenskih perioda, uzorci mesa pilećih grudi su pripremljeni za mikrobiološku analizu po prethodno navedenom standardu, a zatim su urađene mikrobiološke analize za sledeće bakterije: *E. coli*; *L. monocytogenes*; *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae.

3.2.4 Uticaj vremena skladištenja na preživljavanje mikroorganizama na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi

U četvrtom delu istraživanja početni mikrobiološki profil za oba osmotska rastvora je bio identičan kao i u prethodnim delovima istraživanja (poglavlje 3.2.2).

Meso pilećih grudi je pripremljeno na način opisan u poglavlju: 3.2.1 i ponovo je određen početni mikrobiološki profil kockica mesa pilećih grudi u skladu sa standardnim ISO metodima, koji je iznosio: <10 cfu/g za sve ispitivane mikroorganizme: *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., i Enterobacteriaceae.

U četvrtom delu istraživanja inicijalna suspenzija je pripremljena sa odabranim referentnim sojevima, a zatim je urađena veštačka kontaminacija uzoraka mesa pilećih grudi na način opisan u poglavlju: 3.2.3.

Proces osmotske dehidratacije inokulisanih uzoraka mesa pilećih grudi se izvodio po postupku opisanom u poglavlju: 3.2.1, na jednoj temperaturi procesa od 32 °C u termostatu,

vremenu trajanja procesa od 5 časova i na ukupnoj masi inokulisanog mesa pilećih grudi od 600 g u sterilnim staklenim laboratorijskim čašama, zapremine od 5 l. Nakon isteka definisanog vremenskog perioda procesa osmotske dehidratacije, deo uzoraka dehidriranog mesa pilećih grudi (označen sa: 0 dana skladištenja) korišćen je za sledeće analize:

a) Mikrobiološka ispitivanja:

- *E. coli*,
- *L. monocytogenes*,
- *Salmonella* spp.,
- Enterobacteriaceae,
- UBB,
- proteolitički mikroorganizmi i
- psihrotrofni mikroorganizmi.

b) Hemijska ispitivanja:

- određivanje sadržaja biogenih amina (histamina),
- određivanje sadržaja malondialdehida (TBARS test) i
- određivanje sposobnosti neutralizacije 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) radikala.

Drugi deo uzoraka dehidriranog mesa pilećih grudi, mase od 50 g pojedinačno, su pakovani u sterilne "Whirl-Pak" kese za uzorkovanje (Nasco, USA), koje su zatvarane termovarom na aparatu za varenje kesa VS 110W (Gorenje, Slovenia), radi sprečavanja promene vode pripremljenih uzoraka. Upakovani uzorci inokulisanog dehidriranog mesa pilećih grudi skladišteni su u termostatu (ST 1 Basic, Pol-Eko, Poland), na temperaturi skladištenja od 22 °C tokom vremenskih perioda od:

- 1, 2, 4, 7, 10 i 14 dana.

Nakon isteka svakog od navedenih vremenskih perioda skladištenja, iz uzoraka, inokulisanog, dehidriranog, upakovanih i skladištenih mesa pilećih grudi urađena su ista mikrobiološka i hemijska ispitivanja kao i iz uzoraka inokulisanog, dehidriranog mesa pilećih grudi odmah nakon procesa osmotske dehidratacije.

Pored toga, nakon isteka 14. dana skladištenja, inokulisanog, dehidriranog i upakovanih mesa pilećih grudi urađena je detekcija *L. monocytogenes* i *Salmonella* spp. u 10 g uzorka.

3.3 METODI

3.3.1 Metod određivanja mase uzoraka

Mase uzoraka svežeg mesa pilećih grudi, kao i mase uzoraka osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi, nakon procesa osmotske dehidratacije, odmeravane su na vagi (KERN 440-35N), tačnosti $\pm 0,01$ g.

3.3.2 Metod određivanja sadržaja suve materije

Odmereni uzorci svežeg i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi sušeni su do postizanja konstantne mase u sušnici „Instrumentaria”, Zagreb, Hrvatska, na temperaturi od 105 °C. Nakon postizanja konstantne mase uzoraka mesa, iz masa pre i nakon konvektivnog sušenja određivani su sadržaji suve materije svežih uzoraka i osmotski dehidriranih uzoraka.

3.3.3 Metod određivanja a_w vrednosti

Vrednosti a_w svežih i osmotski dehidriranih uzoraka mesa pilećih grudi merene su na uređaju za određivanje a_w TESTO 650 (Testo SE & Co. KgaA, Lenzkirch, Germany) sa specijalnom sondom za merenje a_w vrednosti, sa tačnošću od $\pm 0,001$ na temperaturi od 25 °C, u skladu sa standardom SRPS ISO 18787:2019.

3.3.4 Metodi mikrobioloških analiza

- Određivanje broja *E. coli*, rađeno je prema standardu: SRPS ISO 16649-2:2008.
- Određivanje broja *L. monocytogenes*, rađeno je prema standardu: SRPS ISO 11290-2:2017.
- Određivanje prisustva *L. monocytogenes*, rađeno je prema standardu: SRPS ISO 11290-1:2017.
- Određivanje broja *Salmonella* spp. rađeno je prema modifikovanom standardu: SRPS EN ISO 6579-1:2017, gde je modifikacija bila sledeća: nakon pripreme inicijalne suspenzije u puferisanoj peptonskoj vodi, pripremljena su određena razređenja i pomoću sterilne pipete preneto je po 0,1 ml svakog razređenja na Ksiloza-lizin-dezoksiholat

(XLD) agar (Oxoid, Basingstoke, UK), posle čega su ploče inkubirane na 37 ± 1 °C tokom 24 ± 3 h. Nakon perioda inkubacije, odgovarajućim biohemijskim i serološkim testovima potvrđivane su najmanje 5 tipičnih kolonija *Salmonella* spp.

- Određivanje prisustva *Salmonella* spp., rađeno je prema standardu: SRPS EN ISO 6579-1:2017.
- Određivanje broja Enterobacteriaceae rađeno je prema standardu: SRPS EN ISO 21528-2:2017.
- Određivanje ukupnog broja bakterija rađeno je prema standardu: SRPS EN ISO 4833-1:2014.
- Određivanje broja proteolitičkih mikroorganizama rađeno je na osnovu eksperimentalnog postupka opisanog u radu Němečková i sar. (2009).
- Određivanje broja psihrotrofnih mikroorganizama rađeno je prema standardu: NMKL Method 86, (2013).

3.3.5 Metodi hemijskih analiza

- Određivanje sadržaja histamina, iz grupe biogenih amina, rađeno je na osnovu eksperimentalnog postupka opisanog u radu Duflos i sar. (1999).
- Određivanje sadržaja malondialdehida (TBARS test) rađen je spektrofotometrijskom metodom (Botsoglou i sar. 1994; Mandić, 2007).
- Za određivanje sposobnosti hvatanja 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) radikala korišćen je metod opisan u Šojić i sar. (2017).

3.4 STATISTIČKA OBRADA EKSPERIMENTALNIH PODATAKA I PRORAČUNI

Sve analize su izvođene u tri paralelne probe, za potrebe izražavanja rezultata analiza u obliku srednjih vrednosti±standardne devijacije.

3.4.1 Proračuni parametara osmotske dehidratacije

Na osnovu sledećih izraza izračunati su odzivi procesa osmotske dehidratacije (Le Maguer, 1988):

Sadržaj suve materije:

$$\text{Sadržaj suve materije} = \frac{m_d}{m_i} \cdot 100\% \quad [3.1]$$

Gubitak vode:

$$\text{Gubitak vode} = \frac{m_i z_i - m_f z_f}{m_i} \left[\frac{g}{g_{\text{početnog uzorka (i.s.)}}} \right] \quad [3.2]$$

Prirast suve materije:

$$\text{Prirast suve materije} = \frac{m_f s_f - m_i s_i}{m_i} \left[\frac{g}{g_{i.s.}} \right] \quad [3.3]$$

gde su:

m_d - masa suve materije [g],

m_i - masa svežeg uzorka [g],

m_f - masa uzorka nakon procesa osmotske dehidratacije [g],

z_i - maseni udeo vode u svežem uzorku $\left[\frac{g}{g_{i.s.}} \right]$,

z_f - maseni udeo vode u uzorku nakon procesa osmotske dehidratacije $\left[\frac{g}{g_{i.s.}} \right]$,

s_i - maseni udeo suve materije u svežem uzorku $\left[\frac{g}{g_{i.s.}} \right]$,

s_f - maseni udeo suve materije u uzorku nakon procesa osmotske dehidratacije $\left[\frac{g}{g_{i.s.}} \right]$.

3.4.2 Proračun preživljavanja mikroorganizama

Usled prakse prikazivanja rezultata procesa osmotske dehidratacije, kao relativnih vrednosti u odnosu na početne vrednosti (Filipović i sar., 2012) i uzimanja u obzir varijacija u početnom broju inokulisanih mikroorganizma (u trenutku procesa 0 h), uvedena je vrednost redukcionog odnosa, da bi se omogućilo upoređivanje nivoa redukcije prisutnih mikroorganizama između uzoraka na koje su primenjeni različiti procesni parametri i u različitim osmotskim rastvorima:

$$\text{Redukcioni odnos}_i = \frac{N_0}{N_i} \quad [3.4]$$

gde su:

N_0 – broj mikroorganizama (cfu/g) na početku procesa (0 h), neposredno nakon potapanja u osmotski rastvor

N_i – broj mikroorganizama (cfu/g) tokom procesa, gde je $i: 0,5; 1; 2; 3$ ili 5 h.

3.4.2 Proračun koeficijenta varijacije

Za potrebu proračuna koeficijenta varijacije homogenosti broja ćelija na uzorcima mesa pilećih grudi inokulisanih sa odabranim bakterijskim kontaminentima korišćen je sledeći izraz (Pezo i sar., 2018):

$$\text{Koeficijent varijacije} = \frac{\text{Standardna devijacija}}{\text{Srednja vrednost broja bakterija}} \cdot 100\% \quad [3.5]$$

3.4.4 Metodi proračuna matematičkih modela

3.4.4.1 Metod odzivne površine

Metod odzivne površine (“Response Surface Methodology“ - RSM) je odabran za procenu generalnog uticaja procesnih parametara na promenu posmatranih odziva sistema u ispitivanjima:

- uticaja vrednosti procesnih parametara na odzive procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi,
- uticaja vrednosti procesnih parametara osmotskih rastvora na preživljavanje mikroorganizama,
- uticaja vrednosti procesnih parametara na preživljavanje mikroorganizama na mesu pilećih grudi tokom procesa osmotske dehidratacije.

Izbor adekvatnog eksperimentalnog plana je ključni korak u primeni ovog postupka. Za potrebe svih istraživanja usvojen je potpuni faktorijalni eksperimentalni plan po Box & Behnken-u (Bezerra i sar., 2008).

Značajnost uticaja pojedinačnih faktora kao i njihovih interakcija, za svaki od odziva, utvrđena je analizom varijanse (ANOVA) i primenom “post-hoc Tukey HSD“ testa.

U ispitivanju uticaja vrednosti procesnih parametara na odzive procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi eksperimentalni plan je sadržao tri faktora na tri nivoa, gde su nezavisno promenljive veličine: temperatura procesa (X_1), vreme trajanja procesa (X_2), i koncentracija osmotskog rastvora (X_3), a vrednosti su kodirane i prikazane u tabeli 3.2. za oba osmotska rastvora.

Odabrane vrednosti procesnih parametara, odnosno nezavisno promenljivih veličina, X_1 , X_2 i X_3 , odabrane su na osnovu prethodnih istraživanja osmotske dehidratacije životinjskih sirovina (Filipović i sar., 2012; Ćurčić i sar., 2015). Zavisno promenljive veličine, odnosno odzivi sistema su sadržaj suve materije (Y_1), gubitak vode (Y_2), prirast suve materije (Y_3), i a_w (Y_4).

Tabela 3.2 Kodirane vrednosti procesnih parametara u procesu osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi

	Procesni parametri	Kodirane vrednosti		
		-1	0	+1
X_1	Temperatura (°C)	20	32	44
X_2	Vreme (h)	1	3	5
X_3	Koncentracija (%) s. m.)	Vodeni rastvor	45	52,5
		Melasa	60	70
				80

U ispitivanju uticaja vrednosti procesnih parametara osmotskih rastvora na preživljavanje mikroorganizama eksperimentalni plan je sadržao tri faktora na tri i više (u slučaju faktora vremena šest) nivoa, gde su iste nezavisno promenljive veličine: koncentracija

osmotskog rastvora (X_1), vreme trajanja procesa (X_2) i temperatura procesa (X_3), a vrednosti su kodirane i prikazane u tabeli 3.3 za oba omotska rastvora.

Tabela 3.3 Kodirane vrednosti procesnih parametara za analizu uticaja parametra osmotskih rastvora na preživljavanje mikroorganizama

	Procesni parametri	Kodirane vrednosti						
		-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
X_1	Koncentracija (% s. m.)	Vodeni rastvor	-	-	45	52,5	60	-
		Melasa	-	-	60	70	80	-
X_2	Vreme (h)		0	0,5	1	-	2	3
X_3	Temperatura (°C)		-	-	20	32	44	-

U ispitivanju uticaja vrednosti procesnih parametara na preživljavanje mikroorganizama na mesu pilećih grudi tokom procesa osmotske dehidratacije eksperimentalni plan je sadržao dva faktora na tri i više (u slučaju faktora vremena šest) nivoa, gde su nezavisno promenljive veličine: vreme trajanja procesa (X_1) i koncentracija osmotskog rastvora (X_2), a vrednosti su kodirane i prikazane u tabeli 3.4 za oba omotska rastvora.

Tabela 3.4 Kodirane vrednosti procesnih parametara za analizu uticaja procesnih parametara na preživljavanje mikroorganizama na mesu pilećih grudi tokom procesa osmotske dehidratacije

	Procesni parametri	Kodirane vrednosti						
		-3	-2	-1	0	+1	+2	+3
X_1	Vreme (h)	0	0,5	1	-	2	3	5
X_2	Koncentracija (% s. m.)	Vodeni rastvor	-	-	45	52,5	60	-
		Melasa	-	-	60	70	80	-

Na osnovu eksperimentalnih rezultata doktorske disertacije, za proces osmotske dehidratacije i uticaja vrednosti procesnih parametara osmotskih rastvora na preživljavanje mikroorganizama, a u skladu sa literaturnim podacima o primeni odgovarajućih matematičkih modela (Liu i Peng, 2017) formirani su modeli zavisnosti odziva sistema od ispitivanih nezavisno promenljivih veličina:

$$Y_k = f_k \text{ (temperatura, vreme, koncentracija)} \quad [3.6]$$

gde su: Y_k praćeni odzivi procesa osmotske dehidratacije i redukcionih odnosi odabralih mikroorganizama, a f_k oblik funkcije zavisnosti.

Za uticaj vrednosti pocesnih parametara na preživljavanje mikroorganizama na mesu pilećih grudi tokom procesa osmotske dehidratacije formiran sledeći model zavisnosti odziva sistema od ispitivanih nezavisno promenljivih veličina:

$$Y_k = f_k \text{ (vreme, koncentracija)} \quad [3.7]$$

gde su: Y_k praćeni odzivi redukcionih odnosa odabralih mikroorganizama, a f_k oblik funkcije zavisnosti.

Polinom drugog stepena je korišćen za fitovanje eksperimentalnih podataka (Liu i Peng, 2017):

$$Y_k = \beta_{k0} + \sum_{i=1}^3 \beta_{ki} X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{kii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{kij} X_i X_j \quad [3.8]$$

Za ispitivanje uticaja vrednosti procesnih parametara na odzive procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi dobijeno je 4 odzivne funkcije (za sadržaj suve materije, gubitak vode, prirast suve materije i a_w) ($k = 1-4$) u zavisnosti od 3 ispitana faktora (X), gde su: β_{kij} regresioni koeficijenti; Y predstavlja sadržaj suve materije (Y_1), gubitak vode (Y_2), prirast suve materije (Y_3), a_w (Y_4), a X predstavlja temperaturu (X_1), vreme (X_2) i koncentraciju osmotskog rastvora (X_3).

Za ispitivanje uticaja vrednosti procesnih parametara osmotskih rastvora na preživljavanje mikroorganizama dobijeno je 5 odzivnih funkcija (redukciona odnos: *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae, UBB) ($k = 1-5$) u zavisnosti od 3 ispitana faktora (X), gde su: β_{kij} regresioni koeficijenti; Y predstavlja: *E. coli* (Y_1), *L. monocytogenes* (Y_2), *Salmonella* spp. (Y_3), Enterobacteriaceae (Y_4) i UBB (Y_5) a X koncentraciju osmotskog rastvora (X_1), vreme (X_2) i temperaturu (X_3).

Polinom drugog stepena sledećeg oblika (Liu i Peng, 2017):

$$Y_k = \beta_{k0} + \sum_{i=1}^2 \beta_{ki} X_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{kii} X_i^2 + \beta_{kij} X_i X_j \quad [3.9]$$

korišćen je za fitovanje eksperimentalnih podataka uticaja pocesnih parametara na preživljavanje mikroorganizama na mesu pilećih grudi tokom procesa osmotske dehidratacije.

Dobijeno je 4 odzivne funkcije (redukciona odnos: *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae) ($k = 1-4$) u zavisnosti od 2 ispitana faktora (X), gde su:

β_{kij} regresioni koeficijenti; Y predstavlja: *E. coli* (Y_1), *L. monocytogenes* (Y_2), *Salmonella* spp. (Y_3) i Enterobacteriaceae (Y_4), a X predstavlja: vreme (X_1) i koncentraciju osmotskog rastvora (X_2).

3.4.4.2 Matematički model uticaja vremena skladištenja na preživljavanje mikroorganizama na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi

Na osnovu eksperimentalnih rezultata za uticaj vremena skladištenja na preživljavanje mikroorganizama na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi, a u skladu sa literaturnim podacima o modelovanju održivosti namirnica (Nobile i Conte, 2013) formiran je matematički model zavisnosti mikrobioloških i hemijskih odziva od vremena skladištenja, kao nezavisno promenljive veličine:

$$Y_k = f_k \text{ (vreme skladištenja)} \quad [3.10]$$

gde su: Y_k praćeni odzivi parametara mikrobiološke i hemijske stabilnosti, a f_k oblik funkcije zavisnosti.

Polinom trećeg stepena je korišćen za aproksimaciju eksperimentalno dobijenih podataka. Razvijeno je 8 modela u obliku funkcije od jedne promenljive (zavisne promenljive su bile: *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae, UBB, psihrotrofni mikroorganizmi, sadržaj malondialdehida i DPPH radikala, a nezavisna promenljiva je bila vreme skladištenja) (Nobile i Conte, 2013):

$$Y_k = a_{k0} + a_{k1} \cdot X + a_{k2} \cdot X^2 + a_{k3} \cdot X^3, \quad k = 1-8; \quad [3.11]$$

gde su: a_{k0-3} regresioni koeficijenti; Y predstavlja: *E. coli* (Y_1), *L. monocytogenes* (Y_2), *Salmonella* spp. (Y_3), Enterobacteriaceae (Y_4), UBB (Y_5), psihrotrofni mikroorganizmi (Y_6), sadržaj malondialdehida (Y_7) i DPPH radikala (Y_8), a X predstavlja vreme skladištenja (X).

Za analizu odabranih parametara mikrobiološke i hemijske stabilnosti veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi korišćena je nelinearna regresiona analiza najmanjih kvadrata, uz upotrebu "Levenberg-Marquardt rdt" algoritma za ubrzavanje rešavanja nelinearne jednačine.

Kvalitet razvijenih matematičkih modela zavisnosti mikrobioloških i hemijskih odziva od vremena skladištenja veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa, ispitan je pomoću parametara kvaliteta fitovanja, koji su računati na sledeći način (Arsenović i sar., 2015):

Redukovani “chi“ na kvadrat:

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (x_{exp,i} - x_{pre,i})^2}{N-n} \quad [3.12]$$

MBE – “Mean Bias Error“ (srednja greska pristrasnosti):

$$MBE = \frac{1}{N} \cdot \sum_{i=1}^N (x_{exp,i} - x_{pre,i}) \quad [3.13]$$

RMSE – “Root Mean Square Error“ (koren srednje kvadratne greške):

$$RMSE = \left[\frac{1}{N} \cdot \sum_{i=1}^N (x_{exp,i} - x_{pre,i})^2 \right]^{1/2} \quad [3.14]$$

MPE – “Mean Percentage Error“ (srednja procentna greška):

$$MPE = \frac{100}{N} \cdot \sum_{i=1}^N \left(\frac{|x_{pre,i} - x_{exp,i}|}{x_{exp,i}} \right) \quad [3.15]$$

gde su: $x_{exp,i}$ eksperimentalne vrednosti, $x_{pre,i}$ proračunate vrednosti iz razvijenih matematičkih modela, N je broj merenja, n je broj promenljivih veličina u modelu.

Proračun parametra vremena skladištenja na osnovu zadate vrednosti sadržaja malondialdehyda je urađen upotrebom razvijenog polinoma trećeg stepena, korišćenjem “MS Excel“-ovog dodatka “Solver“ i “Levenberg-Marquardt“-ovog algoritma za optimizaciju nelinearnih funkcija.

Za analizu ANOVA, RSM, formiranje modela polinoma trećeg stepena i za formiranje grafika u svim istraživanjima, korišćen je softverski paket “StatSoft Statistica ver.10.0“ (2010). Za nelinearnu regresionu analizu najmanjih kvadrata, kao i proračun parametara polinoma trećeg stepena, korišćen je je softverski paket “Microsoft, Excel 2016“ (2016).

4. REZULTATI I DISKUSIJA

Poglavlje „Rezultati i diskusija“ podeljeno je u četiri glavne celine koje se, shodno predstavljenom eksperimentalnom planu, uskcesivno nadovezuju. U prvom delu prikazani su rezultati analize uticaja vrednosti procesnih parametara na proces osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi, prateći promene najbitnijih odziva procesa, radi definisanja vrednosti procesnih parametara procesa. U drugom delu, prikazani su rezultati analize uticaja različitih vrednosti procesnih parametara osmotskih rastvora na preživljavanje odabranih mikroorganizama, sa ciljem definisanja nivoa preživljavanja odabranih mikroorganizama koji se nalaze u direktnom kontaktu sa osmotskim rastvorima. Rezultati analiza omogućavaju rasčlanjenje i pojednostavljenje uticaja procesa osmotske dehidratacije i osmotskog stresa na odabранe mikroorganizme. U trećem delu prikazani su rezultati analize uticaja procesa osmotske dehidratacije na preživljavanje odabranih mikroorganizama na mesu pilećih grudi, gde su sveukupni uticaji nepovoljnih uslova visokog osmotskog pritiska analizirani u realnim uslovima prisustva mikroorganizma na mesu pilećih grudi kao matriksu. U poslednjem, četvrtom delu prikazani su rezultati analize mikrobiološke i odabranih parametara hemijske održivosti veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi, praćenjem nivoa preživljavanja ispitivanih mikroorganizama i definisanja roka održivosti pilećeg mesa iz mikrobiološkog ugla.

4.1 UTICAJ VREDNOSTI PROCESNIH PARAMETARA NA ODZIVE PROCESA OSMOTSKE DEHIDRATACIJE MESA PILEĆIH GRUDI

Analiza parametra prenosa mase u procesu osmotske dehidratacije izvodi se sa ciljem dobijanja kvalitetnih osmotski dehidriranih poluproizvoda, uz istovremenu uštedu sirovina, vremena i energije u procesu. Dobijeni rezultati mogu da se koriste kao ulazni podaci za optimizaciju i kontrolu upravljanja procesom osmotske dehidratacije u realnim uslovima.

U tabelama P.1 i P.2 (datim u prilogu) prikazane su srednje vrednosti i standardne devijacije tri ponavljanja eksperimentalnih merenja odziva procesa osmotske dehidratacije (sadržaj suve materije, gubitak vode, prirast suve materije i a_w) mesa pilećih grudi. Proces je izvođen u osmotskom vodenom rastvoru NaCl i saharoze, tabela P.1 i melase šećerne repe, tabela P.2, na tri temperature procesa (20, 32 i 44 °C), tokom tri vremena trajanja procesa (1, 3 i 5 h), u koncentracijama osmotskog rastvora NaCl i saharoze od: 45; 52,5 i 60% s. m. i u koncentracijama melase šećerne repe od: 60; 70 i 80% s. m. Parametri procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi (temperature i vremena procesa i koncentracije osmotskih rastvora) odabrani su na osnovu prethodnih istraživanja procesa osmotske dehidratacije drugih sirovina životinjskog porekla (svinjskog mesa i mesa ribe karaš) (Filipović i sar., 2012; Filipović, 2013; Ćurčić i sar., 2015), sa obzirom na to da nisu u dostupnoj literaturi pronađeni podaci o osmotskoj dehidrataciji mesa pilećih grudi u vodenom rastvoru NaCl i saharoze ili u melasi šećerne repe kao osmotskom rastvoru.

4.1.1 Vrednosti odziva procesa osmotske dehidratacije

Sadržaj suve materije osmotski dehidriranih sirovina je dobar indikator masenih tokova koji se javljaju tokom procesa osmotske dehidratacije. Povećanje sadržaja suve materije osmotski dehidrirane sirovine u poređenju sa svežom, posledica je kombinovanog uticaja migracije vode iz materijala koji se dehidrira i prirasta suve materije koji se javlja kao posledica ulaska rastvorka iz osmotskog rastvora u sirovину koja se dehidrira (Filipović i Lević, 2014).

Povećanje sadržaja suve materije životinjskih sirovina, uz istovremeno snižavanje vrednosti a_w , nakon tretmana osmotskom dehidratacijom, dovodi i do poboljšanja mikrobiološkog profila dehidriranog poluproizvoda u poređenju sa mikrobiološkim profilom polazne sirovine (redukcija broja *E. coli* na svinjskom mesu od 63,85 do 100% nakon procesa osmotske dehidratacije) (Filipović i sar., 2012).

Gubitak vode je jedan od najvažnijih odziva procesa osmotske dehidratacije na osnovu kojeg se analizira efikasnost procesa pri različitim procesnim parametrima. Gubitak vode kvantificuje primaran tok materije u procesu osmotske dehidratacije, što predstavlja izlazak vode iz materijala koji se dehidrira i prelazak u osmotski rastvor (Filipović i Lević, 2014).

Prirast suve materije javlja se kao posledica sekundarnog prenosa mase u procesu osmotske dehidratacije, odnosno migracije rastvorka iz osmotskog rastvora u sirovinu koja se dehidrira. Prirast suve materije je specifičnost procesa osmotske dehidratacije i on se ne javlja prilikom drugih metoda sušenja. Usled ovog mehanizma prenosa mase, prirast suve materije menja hemijski sastav dehidrirane sirovine u poređenju sa svežom sirovinom (Filipović i Lević, 2014).

Vrednost a_w je ključan parametar pomoću kojeg se može kontrolisati rast i razvoj mikroorganizama. Poznavanje a_w vrednosti pri kojoj prestaje metabolička aktivnost mikroorganizama je značajno sa aspekta očuvanja hrane (Tortora i sar., 2013).

Sadržaj suve materije polazne sirovine u procesu osmotske dehidratacije, odnosno svežeg mesa pilećih grudi, prosečno je iznosio 24,90%, dok je a_w svežeg mesa pilećih grudi prosečno iznosila 0,939.

Najveće postignute vrednosti sadržaja suve materije, gubitka vode, prirasta suve materije i najniže vrednosti a_w osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u osmotskom vodenom rastvoru iznosile su 58,30%, 0,4791 g/g_{i.s.}, 0,1597 g/g_{i.s.}, 0,800, redom. Ove vrednosti su postignute nakon 5 h procesa, pri najvišoj temperaturi (44 °C) i u najvećoj koncentraciji osmotskog rastvora (60%), tabela P.1.

Najveće postignute vrednosti sadržaja suve materije, gubitka vode, prirasta suve materije i najniže vrednosti a_w osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u melasi iznosile su 68,69%; 0,5810 g/g_{i.s.}; 0,1492 g/g_{i.s.}; 0,809, redom. Ove vrednosti su postignute nakon 5 časova procesa, pri najvišoj temperaturi (44 °C) i u najvećoj koncentraciji melase (80%), tabela P.2.

Postignute vrednosti sadržaja suve materije i gubitka vode osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u melasi u poređenju sa procesom u vodenom rastvoru su bile značajno veće pri istim odgovarajućim primenjenim procesnim parametrima. Postignute vrednosti prirasta suve materije i a_w u procesima osmotske dehidratacije u melasi i u vodenom rastvoru su bile vrlo bliske, tabele P.1 i P.2.

Postignute vrednosti sadržaja suve materije osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi, tabele P.1 i P.2, u poređenju sa drugim istraživanjima procesa osmotske dehidratacije sirovina životinjskog porekla u kojima su primenjivani procesni parametri sličnih vrednosti (proces u

trajanju od 5 h na 50 °C u vodenom osmotskom rasvoru maksimalne koncentracije od 60%), su bile uporedive: meso ribe karaš – 52,91% (Ćurčić i sar., 2015), svinjsko meso – 62,16% (Filipović, 2013), dok je u procesima sa melasom postignut vrlo sličan rezultat: meso ribe karaš – 66,30% (Ćurčić i sar., 2015), svinjsko meso – 71,11% (Pezo i sar., 2013).

Postignute vrednosti gubitka vode u drugim istraživanjima procesa osmotske dehidratacije sirovina životinjskog porekla u vodenom osmotskom rastvoru NaCl i saharoze su bile slične dehidrataciji pilećeg mesa i iznosile su: meso ribe karaš – 0,470 g/g_{i.s.} (Ćurčić i sar., 2015), svinjsko meso – 0,4950 g/g_{i.s.} (Filipović, 2013), a u melasi: svinjsko meso – 0,58 g/g_{i.s.} (Pezo i sar., 2013) i meso ribe karaš – 0,57 g/g_{i.s.} (Ćurčić i sar., 2015).

Postignute vrednosti prirasta suve materije u drugim istraživanjima procesa osmotske dehidratacije sirovina životinjskog porekla u vodenom osmotskom rastvoru NaCl i saharoze su takođe bile slične dehidrataciji pilećeg mesa i iznosile su: meso ribe karaš – 0,127 g/g_{i.s.} (Ćurčić i sar., 2015), svinjsko meso – 0,1616 g/g_{i.s.} (Filipović, 2013) i proces u melasi: meso ribe karaš – 0,14 g/g_{i.s.} (Ćurčić i sar., 2015), svinjsko meso – 0,21 g/g_{i.s.} (Pezo i sar., 2013).

Postignute vrednosti aktivnosti vode u drugim istraživanjima procesa osmotske dehidratacije sirovina životinjskog porekla u vodenom osmotskom rastvoru NaCl i saharoze su iznosile: meso ribe karaš – 0,887 (Ćurčić i sar., 2015), svinjsko meso – 0,805 (Filipović, 2013), a u procesu u melasi: meso ribe karaš – 0,83 (Ćurčić i sar., 2015), svinjsko meso – 0,80 (Pezo i sar., 2013).

4.1.2 Statistička značajnost promene odziva procesa osmotske dehidratacije sa promenom vrednosti parametara procesa

ANOVA eksperimentalnih podataka za odzive procesa osmotske dehidratacije sprovedena je na skupu podataka koji su obuhvatili vrednosti odziva procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi u pojedinačim osmotskim rastvorima (zasebno za voden rastvor i melasu). Na taj način, omogućeno je praćenje statističke značajnosti uticaja tri procesna parametra (temperatura, vreme i koncentracija) na odzive procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi.

Promenom vrednosti pojedinačnih parametara: temperature i vremena procesa, kao i koncentracije oba osmotska rastvora (voden rastvor i melasa), pri nepromenjenim drugim parametrima procesa, došlo je do statistički značajne ($p<0,05$) promene svih odziva procesa osmotske dehidratacije: sadržaja suve materije, gubitka vode, prirasta suve materije i a_w ,

osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi, pri nivou značajnosti od $p<0,05$, tabele P.1 i P.2. Ovakvi rezultati ukazuju da temperatura, vreme procesa i koncentracija osmotskih rastvora statistički značajno ($p<0,05$) utiču na postignute nivoje vrednosti svih odziva procesa osmotske dehidratacije.

4.1.3 Matematički modeli odziva procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi

Metod odzivne površine primjenjen je sa ciljem određivanja modela procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi u osmotskom vodenom rastvoru i melasi.

U tabelama 4.1 i 4.2 prikazani su rezultati analize varijanse (ANOVA) modela odzivnih površina koji su razvijeni na osnovu eksperimentalnih rezultata za proces osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi u vodenom rastvoru i melasi, prikazanih u tabelama P.1 i P.2. Na osnovu ovih rezultata analizirani su statistički značajni efekti procesnih parametara (temperatura, vremena i koncentracije), kao i njihove međuzavisnosti na odzive matematičkog modela (sadržaj suve materije, gubitak vode, prirast suve materije i a_w). U metodu odzivne površine korišćen je polinom drugog reda (“Second Order Polynomial” - SOP) u obliku jednačine [3.8] radi predviđanja funkcije [3.6] za sve procesne parametre (temperature, vremena i koncentracije), odnosno nezavisne promenljive veličine.

Na osnovu ANOVA testa praćenih odziva mesa pilećih grudi dehidriranog u vodenom rastvoru prikazanih u tabeli 4.1, vidi se da na vrednost odziva sadržaja suve materije, gubitka vode i a_w statistički su značajno ($p<0,05$) uticala sva tri procesna parametra (temperatura, vreme i koncentracija osmotskih rastvora), sa tim što se kao najuticajniji parametar pokazalo vreme, zatim koncentracija i na kraju temperatura, što je u skladu sa osmotskom dehidratacijom biljnog i životinjskog materijala (Mišljenović i sar., 2012; Filipović i Lević, 2014).

Testiranjem odziva prirasta suve materije utvrđeno je da vrednosti procesnih parametara temperature i vremena statistički značajno ($p<0,05$) utiču na vrednosti prirasta suve materije, dok koncentracija osmotskog rastvora nije imala statistički značajan ($p<0,05$) uticaj na vrednosti prirasta suve materije, tabela 4.1.

Tabela 4.1 ANOVA odziva modela mesa pilećih grudi osmotski dehidriranog u vodenom rastvoru

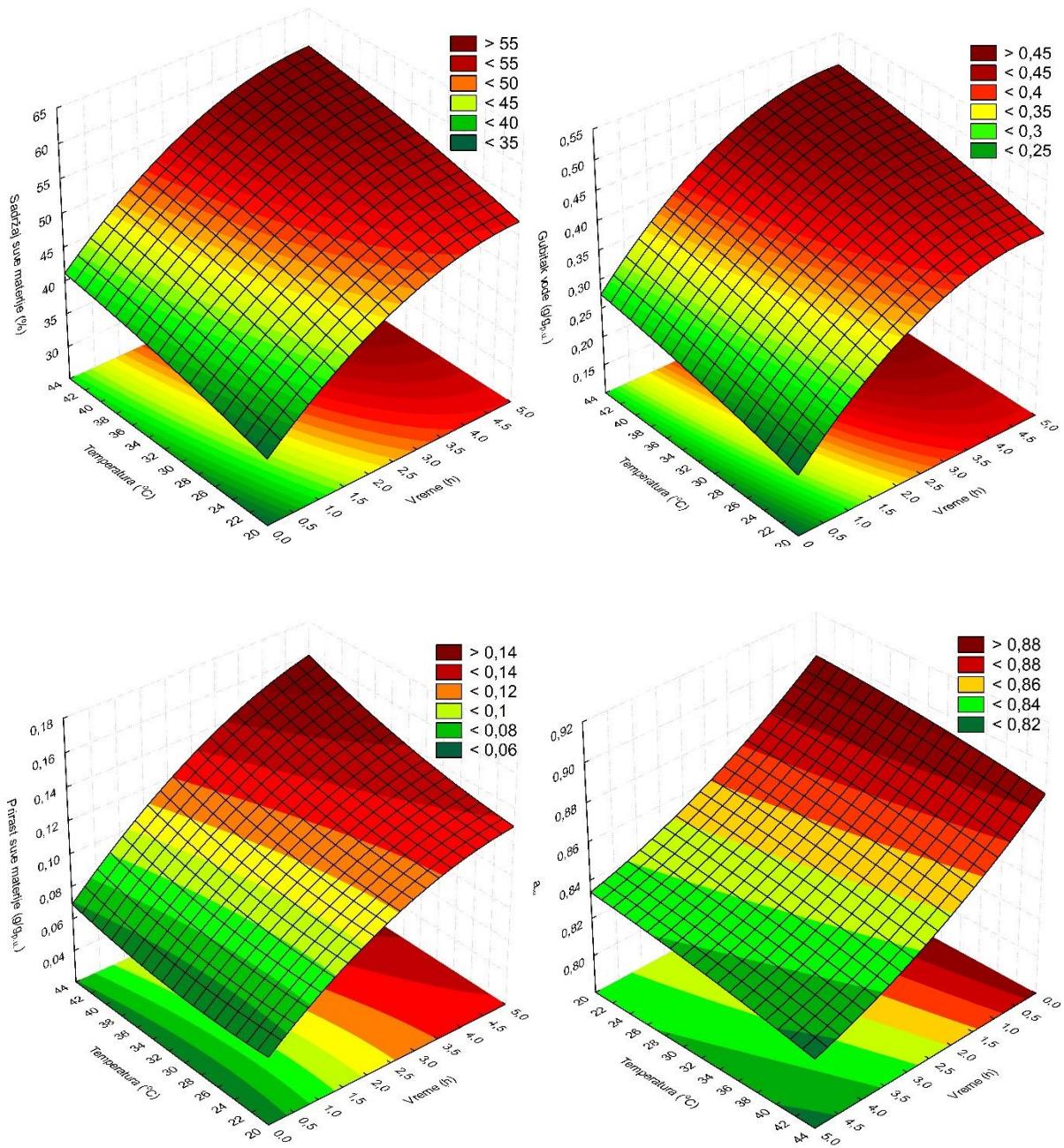
Procesni parametri	Član	df ⁺	Zbir kvadrata			
			Sadržaj suve materije	Gubitak vode	Prirost suve materije	a _w
Temperatura	Linearni	1	174,7239 *	0,025522 *	0,001245 *	0,000636 *
	Kvadratni	1	2,1519 ns	0,000200 ns	0,000135 ns	0,000016 ns
Vreme	Linearni	1	518,9699 *	0,074324 *	0,008496 *	0,007854 *
	Kvadratni	1	45,1600 *	0,008873 *	0,000444 *	0,000125 ns
Koncentracija	Linearni	1	221,7904 *	0,057185 *	0,000153 ns	0,007524 *
	Kvadratni	1	0,0424 ns	0,000028 ns	0,000015 ns	0,000119 ns
Proizvod parametara	Temperatura × Vreme	1	0,9936 ns	0,000079 ns	0,000255 ns	0,000008 ns
	Temperatura × Koncentracija	1	2,1992 ns	0,000011 ns	0,000074 ns	0,000048 ns
	Vreme × Koncentracija	1	1,5838 ns	0,000096 ns	0,000396 *	0,000140 ns
Greška	Ostatak varijanse	26	22,5145 ns	0,002835 ns	0,001174 ns	0,001041 ns
	Ukupan zbir kvadrata	35	990,1295	0,169153	0,001174	0,017509
r^2 (Koeficijent korelacije)			0,977	0,983	0,905	0,940

* Statistički značajno na nivou p<0,05

⁺ Broj stepeni slobode

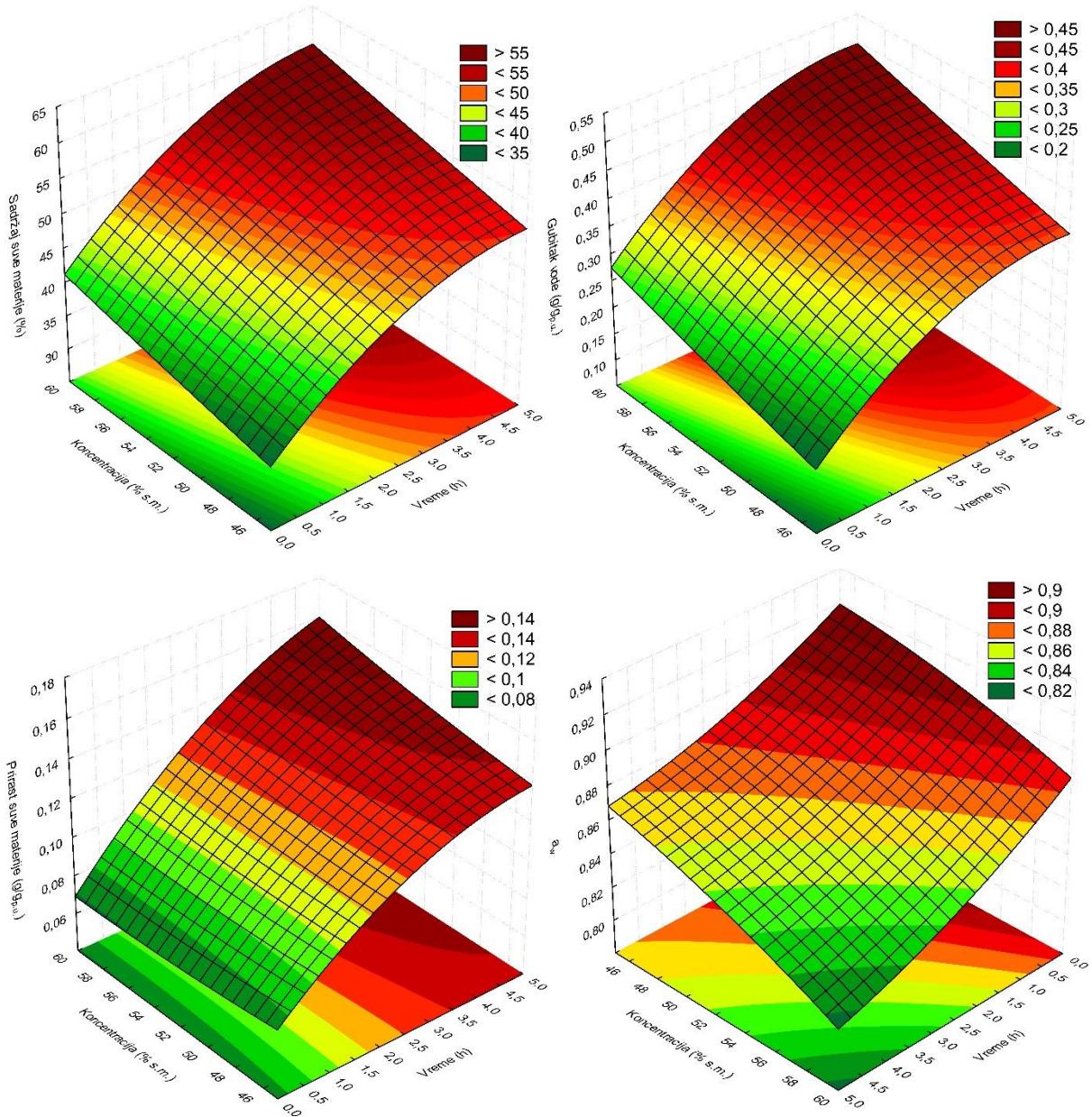
ns Nije statistički značajno

Na slikama 4.1a i 4.2b dati su grafički prikazi razvijenih matematičkih modela svih odziva procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi u vodenom osmotskom rastvoru, sa kojih se može pratiti zavisnost promene posmatranog odziva od promena vremena i temperature odnosno promena vremena i koncentracije. Sa slike se može videti da je porastom vrednosti sva tri procesna parametra (temperature, vremena i koncentracije) dolazilo do povećanja intenziteta prenosa materije u oba toka (primarnom: vode iz sirovine koja se dehidrira, i sekundarnom: rastvorka iz osmotskog rastvora u sirovini koja se dehidrira), a posledično i do porasta vrednosti sadržaja suve materije, gubitka vode i prirasta suve materije, a sniženja vrednosti a_w. Intenziviranje mehanizama prenosa mase sa povećanjem vrednosti procesnih parametara dovodi i do unapređenja tehnološke efikasnosti procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi u vodenom rastvoru. Na graficima se, takođe može kvantifikovani veći uticaj promene vremena od promene temperature i promene koncentracije na promenu svih odziva procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi, što je u skladu sa rezultatima ANOVA testa, tabele 4.1, P.1 i P.2.



Slika 4.1a Promena odzivnih parametara (sadržaj suve materije, gubitak vode, prirast suve materije, a_w) osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u vodenom osmotskom rastvoru u zavisnosti od: temperature i vremena trajanja procesa u vodenom rastvoru koncentracije 60%

s. m.



Slika 4.1b Promena odzivnih parametara (sadržaj suve materije, gubitak vode, prirast suve materije, a_w) osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u vodenom osmotskom rastvoru u zavisnosti od: koncentracije vodenog rastvora i vremena trajanja procesa pri temperaturi procesa od 44 °C

Linearni članovi SOP-a sva tri procesna parametra (temperaturu, vreme i koncentraciju), kao i kvadratni član za vreme statistički značajno ($p<0,05$) doprinose formiranju modela sadržaja suve materije osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u vodenom rastvoru, tabela 4.1.

Linearni i kvadratni članovi SOP-a za vreme, kao i linearni članovi za temperaturu i koncentraciju statistički značajno ($p<0,05$) su doprineli formiranju matematičkog modela gubitka vode iz osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u vodenom rastvoru, tabela 4.1.

Linearni i kvadratni članovi vremena, linearni član temperature, kao i član proizvoda vremena i koncentracije SOP-a su statistički značajno ($p<0,05$) doprineli formiranju matematičkog modela prirasta suve materije osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u vodenom rastvoru, tabela 4.1.

Sva tri linearna člana SOP-a (ta temperaturu, vreme i koncentraciju) statistički značajno ($p<0,05$) doprinose modelu SOP-a za a_w , tabela 4.1.

Statistička značajnost ($p<0,05$) kvadratnog člana za vreme u SOP modelima ukazuje da se vrednosti odziva sadržaja suve materije, gubitka vode i prirasta suve materije menjaju sa kvadratnom zavisnošću od vremena trajanja procesa, kao posledica smanjivanja brzine prenosa mase u procesu sa protokom vremena trajanja procesa. Kvadratna zavisnost posmatranih odziva od vremena i usporavanje brzine prenosa mase, uočljivi su na graficima matematičkih modela procesa, slike 4.1a i 4.2b.

Ostatak varijanse, kao mera odstupanja matematičkog modela od izmerenih eksperimentalnih vrednosti odziva, nije bila statistički značajna ($p<0,05$) ni u jednom matematičkom modelu, što ukazuje da su primjenjeni modeli za ispitivane odzive procesa adekvatno prikazuju proces osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi. Vrednost koeficijenata korelacije r^2 koja se definiše kao odnos opisane varijacije sa ukupnom varijansom sistema (Madamba, 2002), je takođe bila visoka za svaki ispitivani odziv (od 0,905 do 0,983), što još jednom ukazuje na dobro poklapanje modela SOP-a sa izmerenim eksperimentalnim vrednostima.

Na osnovu ANOVA testa praćenih odziva pilećeg mesa dehidriranog u melasi prikazanih u tabeli 4.2, vidi se da na vrednost svih odziva procesa (sadržaj suve materije, gubitak vode, prirast suve materije i a_w) statistički su značajno ($p<0,05$) uticala sva tri procesna parametra (temperatura, vreme i koncentracija), s tim što se kao najuticajniji parametar pokazalo vreme, pa zatim temperature i na kraju koncentracija, identično kao i kod osmotske dehidratacije svinjskog mesa u melasi (Filipović i Lević, 2014).

Tabela 4.2 ANOVA odziva modela mesa pilećih grudi osmotski dehidriranog u melasi

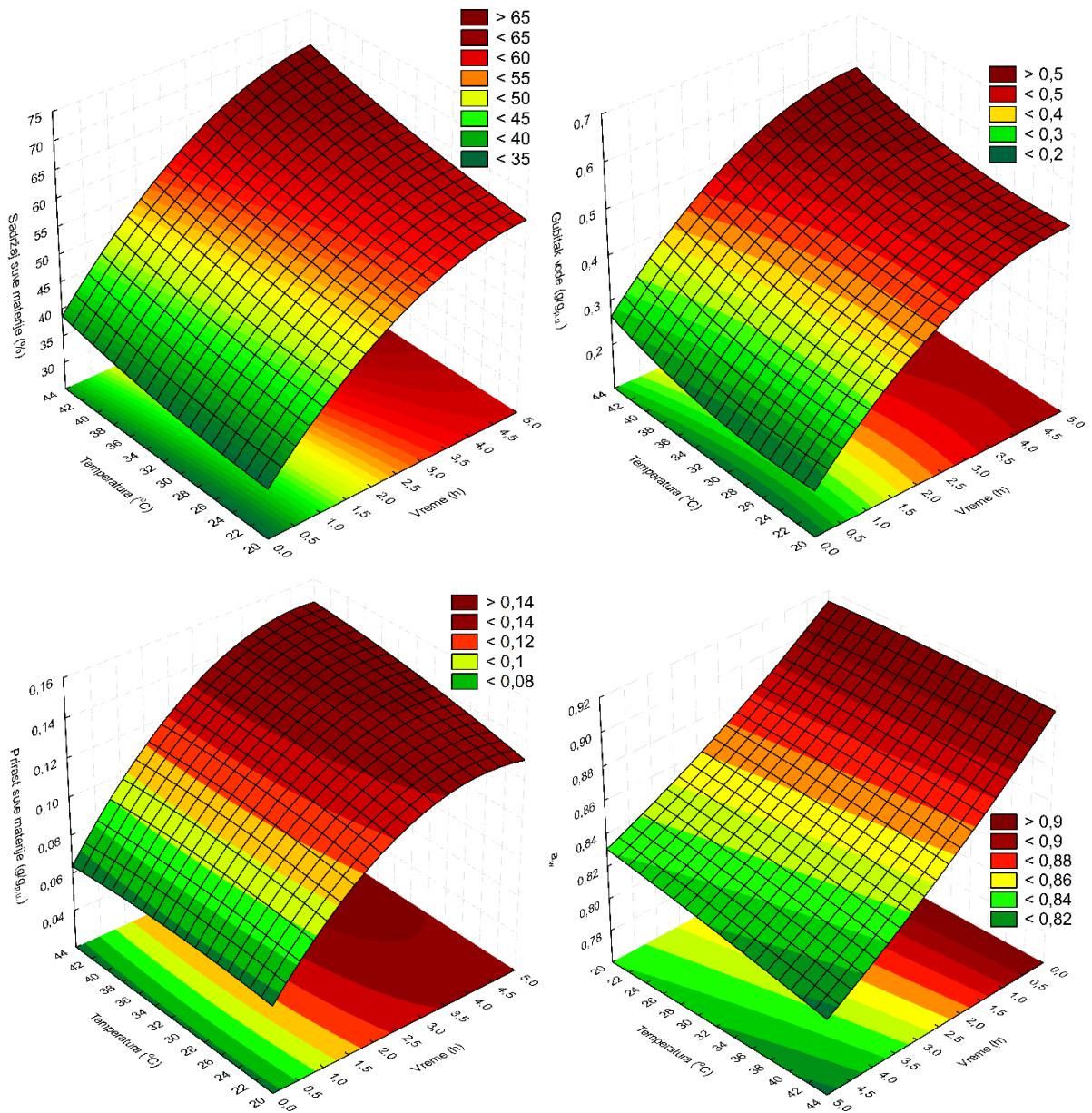
Procesni parametri	Član	df ⁺	Zbir kvadrata			
			Sadržaj suve materije	Gubitak vode	Prirast suve materije	a _w
Temperatura	Linearni	1	170,976 *	0,013517 *	0,000373 *	0,000601 *
	Kvadratni	1	5,713 *	0,004265 *	0,000036 ns	0,000007 ns
Vreme	Linearni	1	1232,348 *	0,154939 *	0,006394 *	0,010320 *
	Kvadratni	1	102,455 *	0,015014 *	0,001428 *	0,000069 ns
Koncentracija	Linearni	1	126,657 *	0,015315 *	0,000468 *	0,006962 *
	Kvadratni	1	0,004 ns	0,000044 ns	0,000183 ns	0,000007 ns
Proizvod parametara	Temperatura × Vreme	1	8,530 *	0,000057 ns	0,000196 ns	0,000261 *
	Temperatura × Koncentracija	1	2,373 ns	0,000484 *	0,000006 ns	0,000040 ns
	Vreme × Koncentracija	1	9,387 *	0,000743 *	0,000123 ns	0,001825 *
Greška	Ostatak varijanse	26	11,851 ns	0,001327 ns	0,000800 ns	0,000534 ns
	Ukupan zbir kvadrata	35	1670,293	0,205705	0,010009	0,020628
r²			0,993	0,994	0,920	0,974

* Statistički značajno na nivou p<0,05

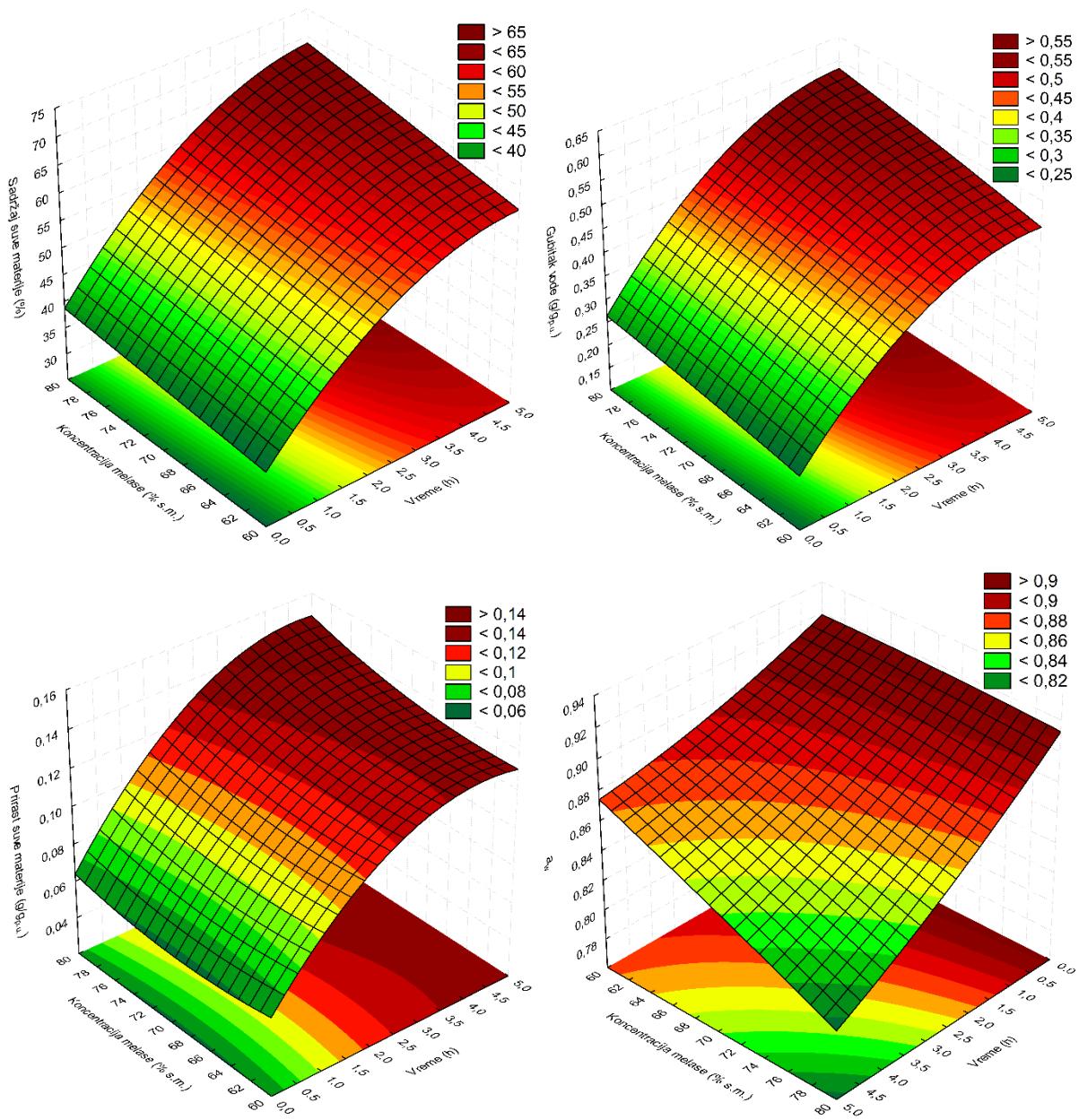
⁺ df - Broj stepeni slobode

ns Nije statistički značajno

Na slikama 4.2a i 4.2b dati su grafički prikazi razvijenih matematičkih modela procesa osmotske dehidratacije pilećeg mesa u melasi, sa kojih se može pratiti zavisnost promene posmatranog odziva od promena vremena i temperature, odnosno promena vremena i koncentracije. Porastom vrednosti sva tri procesna parametra, vremena, temperature i koncentracije, pri konstantnim vrednostima preostala dva procesna parametra (u zavisnosti koji je variran), dolazi do porasta vrednosti sadržaja suve materije, gubitka vode, prirasta suve materije i smanjenja vrednosti a_w osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u melasi. To je posledica ubrzanja mehanizma prenosa materije u oba toka, objašnjrenom u poglavlju pregleda literature i diskusije matematičkih modela procesa osmotske dehidratacije pilećeg mesa u vodenom rastvoru.



Slika 4.2a Promena odzivnih parametara (sadržaj suve materije, gubitak vode, prirast suve materije, a_w) osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u melasi u zavisnosti od: temperature i vremena trajanja procesa u melasi 80% s. m.



Slika 4.2b Promena odzivnih parametara (sadržaj suve materije, gubitak vode, prirast suve materije, a_w) osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u melasi u zavisnosti od: koncentracije melase i vremena trajanja procesa pri temperaturi procesa od 44 °C

Linearni i kvadratni članovi SOP-a za temperaturu i vreme, linearni član za koncentraciju, kao i članovi proizvoda temperatura \times vreme i vreme \times koncentracija statistički značajno ($p<0,05$) su doprineli formiranju matematičkog modela sadržaja suve materije osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u melasi, tabela 4.2.

Linearni i kvadratni članovi SOP-a za temperaturu i vreme, linearni član za koncentraciju, kao i članovi proizvoda temperatura \times koncentracija i vreme \times koncentracija statistički značajno ($p<0,05$) su doprineli formiranju matematičkog modela gubitka vode osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u melasi, tabela 4.2.

Sva tri linearna člana SOP (temperature, vremena i koncentracije), uz kvadratni član za vreme SOP-a statistički značajno ($p<0,05$) doprinose formiranju matematičkog modela prirasta suve materije osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u melasi, tabela 4.2.

Sva tri linearna člana (temperature, vremena i koncentracije), kao i članovi proizvoda temperatura \times vreme i vreme \times koncentracija statistički značajno ($p<0,05$) su doprinosili formiranju matematičkog modela a_w osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u melasi, tabela 4.2.

Kao i u slučaju matematičkog modela procesa u vodenom rastvoru, tako i kod matematičkog modela procesa u melasi, statistička značajnost ($p<0,05$) kvadratnog člana za vreme ukazuje da se vrednosti odziva sadržaja suve materije, gubitka vode i prirasta suve materije menjaju sa kvadratnom zavisnošću od vremena trajanja procesa, kao posledica smanjivanja brzine prenosa mase u procesu sa protokom vremena trajanja procesa, tabela 4.2.

Visoke vrednosti r^2 (od 0,920 do 0,994) i ostaci varijansi koji nisu statistički značajni ($p<0,05$), ukazuju na dobro poklapanje predloženih modela za odzive procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi u melasi sa eksperimentalnim podacima, tabela 4.2.

U tabeli 4.3 prikazani su regresioni koeficijenti SOP-a jednačina [3.8] za četiri odziva modela osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi u osmotskom vodenom rastvoru, zajedno sa statističkim značajnostima pojedinačnih koeficijenata.

Tabela 4.3 Regresioni koeficijenti polinoma drugog stepena za četiri odziva modela osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi u vodenom rastvoru

Regresioni koeficijenti	Sadržaj suve materije	Gubitak vode	Prirast suve materije	a_w
β_0	15,47948	-0,181884 ns	0,257667 ns	0,765918 *
β_1	0,24010 ns	0,004835 ns	-0,003446 ns	0,001492 ns
β_{11}	-0,00416 ns	-0,000040 ns	0,000033 ns	-0,000011 ns
β_2	5,14478 *	0,076487 *	-0,002472 ns	-0,004208 ns
β_{22}	-0,68587 *	-0,009614 *	-0,002151 *	0,001139 ns
β_3	0,08633 ns	0,002577 ns	-0,004571 ns	0,006965 ns
β_{33}	0,00149 ns	0,000038 ns	0,000028 ns	-0,000079 ns
β_{12}	0,01199 ns	0,000107 ns	0,000192 ns	-0,000035 ns
β_{13}	0,00476 ns	0,000010 ns	0,000028 ns	-0,000022 ns
β_{23}	0,02422 ns	0,000189 ns	0,000383 *	-0,000228 ns

* Statistički značajno na nivou $p<0,05$

ns Nije statistički značajno

U tabeli 4.4 prikazani su regresioni koeficijenti SOP-a jednačina [3.8] za četiri odziva modela osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi u melasi, zajedno sa statističkim značajnostima ($p<0,05$) pojedinačnih koeficijenata.

Tabela 4.4 Regresioni koeficijenti polinoma drugog stepena za četiri odziva modela osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi u melasi

Regresioni koeficijenti	Sadržaj suve materije	Gubitak vode	Prirast suve materije	a_w
β_0	33,99853 ns	0,181391 ns	0,329026 *	0,824918 *
β_1	-0,54162 *	-0,013546 *	0,000569 ns	0,001665 ns
β_{11}	0,00678 *	0,000185 *	-0,000017 ns	-0,000008 ns
β_2	6,11587 *	0,090960 *	0,015972 ns	0,032333 *
β_{22}	-1,03307 *	-0,012506 *	-0,003857 *	0,000847 ns
β_3	0,04930 ns	0,003823 ns	-0,007882 ns	0,001928 ns
β_{33}	-0,00025 ns	-0,000027 ns	0,000055 ns	-0,000011 ns
β_{12}	0,03513 *	0,000091 ns	0,000169 ns	-0,000194 *
β_{13}	0,00371 ns	0,000053 *	0,000006 ns	-0,000015 ns
β_{23}	0,04422 *	0,000393 *	0,000160 ns	-0,000617 *

* Statistički značajno na nivou $p<0,05$

ns Nije statistički značaj

4.2 UTICAJ VREDNOSTI PROCESNIH PARAMETARA OSMOTSKIH RASTVORA NA PREŽIVLJAVANJE MIKROORGANIZAMA

U objavljenim radovima koji se bave problematikom procesa osmotske dehidratacije životinjskih sirovina (Filipović i sar., 2012; Filipović i sar., 2014; Filipović i sar., 2015; Ćurčić i sar., 2015) uglavnom se fokus istraživanja postavlja na optimizaciju procesnih parametara sa aspekta poboljšanja kinetike prenosa mase. U radovima u kojima je ispitivan mikrobiološki profil osmotski dehidriranog poluproizvoda od životinjskih sirovina (Filipović i sar., 2012; Filipović, 2013; Filipović i Lević, 2014; Lončar, 2015), istraživanja su se bazirala na praćenju promena mikrobioloških parametara značajnih za bezbednost i kvalitet pre i nakon procesa osmotske dehidratacije, međutim nisu podrobno ispitivani nivoi preživljavanja pojedinačnih mikroorganizama, od značaja za zdravstvenu bezbednost, podvrgnuti sredini sa visokim osmotskim pritiskom. Nije detaljno analizirana kinetika preživljavanja/odumiranja mikroorganizama od interesa za date životinjske sirovine.

Usled nedostatka detaljnih podataka o uticaju sredine sa visokim osmotskim pritiskom na mikrobiološke karakteristike osmotski dehidriranog poluproizvoda, početak mikrobioloških istraživanja je fokusiran na uticaj sredine sa visokim osmotskim pritiskom na vijabilnost ćelija odabralih bakterija. Iz tog razloga bilo je neophodno ispitati uticaje parametara procesa osmotske dehidratacije na bakterije, koje su od značaja za zdravstvenu bezbednost (*Salmonella* spp. i *L. monocytogenes*) i higijenu u toku procesa proizvodnje, pakovanja i skladištenja (*E. coli*).

Salmonella spp. je odabrana jer nastanjuje digestivni trakt živine, nalazi se na koži i perju i bez adekvatne intervencije, može se zadržati sve do krajnjeg proizvoda. Smatra se jednim od najznačajnijih patogena koji ima veliki zdravstveni značaj kod ljudi, a najčešće izaziva crevna oboljenja (Carrasco i sar., 2012).

E. coli, je od značaja za analizu i ispitivanje kao indikator fekalne kontaminacije i loših higijenskih uslova u klanicama ili trgovinskim lancima. Ima sposobnost preživljavanja u živinskem mesu tokom postupaka proizvodnje, obrade, distribucije, kao i tokom skladištenja (Mpundu i sar., 2019).

Sa obzirom da je *L. monocytogenes* psihrotrofna bakterija, ona može da preživi na hladnim i vlažnim mestima u proizvodnom pogonu i stvara biofilmove, koji su otporni na mnoga dezinfekciona sredstva (Lunden i sar., 2002; Suihko i sar., 2002). Stoga je od značaja

analiza vijabilnosti *L. monocytogenes* u uslovima procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi.

U tabeli 4.5 prikazani su rezultati preliminarnog ogleda uticaja vrednosti procesnih parametara osmotskih rastvora (koncentracije i vrste osmotskog rastvora) na preživljavanje bakterija na 44 °C tokom 5 h. Cilj je bio utvrditi nivo redukcije nakon simuliranog procesa osmotske dehidratacije za dva nivoa kontaminacije (niži i viši nivo) osmotskih rastvora, a zatim odabrati nivo kontaminacije koji bi omogućavao preživljavanje dovoljnog broja odabralih bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes* i *Salmonella* spp.), validnog za statističku analizu uticaja vrednosti procesnih parametara osmotskih rastvora na preživljavanje prethodno navedenih bakterija.

Tabela 4.5 Uticaj procesnih parametara ($t = 44^{\circ}\text{C}$ tokom 5 h) osmotskih rastvora na preživljavanje odabralih bakterija

Vrsta rastvora, koncentracija (% s. m.)	Broj čelija \log_{10} (cfu/ml)		
	<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.
Nivo kontaminacije 1 (niži nivo)			
Inokulum	4,00	4,08	4,11
Vodeni rastvor, 60%	3,60	<1,00	2,95
Melasa, 60%	2,70	<1,00	3,04
Melasa, 80%	2,48	<1,00	2,78
Nivo kontaminacije 2 (viši nivo)			
Inokulum	5,00	5,08	5,11
Vodeni rastvor, 60%	4,56	1,70	4,00
Melasa, 60%	3,63	<1,00	4,15
Melasa, 80%	3,45	<1,00	3,70

Rezultati za *E. coli* i *Salmonella* spp. ukazuju da je došlo do redukcije broja čelija u opsegu od 0,4 do 1,52 log jedinica, za oba nivoa kontaminacije. Rezultati za *L. monocytogenes* ukazuju da je došlo do redukcije nakon tretmana i više od 4 log jedinice, pokazujući višu osetljivost ove bakterije na osmotski šok od *E. coli* i *Salmonella* spp., tabela 4.5.

Primetni su viši nivoi redukcije *E. coli* i *L. monocytogenes* u melasi u poređenju sa vodenim rastvorom istog sadržaja suve materije (na primer: 3,60 naspram 2,70 i 4,56 naspram 3,63 \log_{10} (cfu/ml) za *E. coli* u vodenom rastvoru i melasi, redom, za niži i viši nivo kontaminacije) što ukazuje da sadržaj suve materije primjenjenog osmotskog rastvora nije jedini faktor koji utiče na nivo redukcije, već i hemijske karakteristike korišćenih rastvora. Chen i sar. (2017) su dokazali posebnu antibakterijsku aktivnost antioksidativnih jedinjenja iz melase, što

je moglo uticati na dobijene rezultate preliminarnog ogleda. Posebno je istaknut uticaj antimikrobnog delovanja fenolnih jedinjenja melase na aktivnost *L. monocytogenes*, tabela 4.5.

Na osnovu dobijenih rezultata, usvojen je nivo kontaminacije 2 (viši nivo) koji je pogodniji, jer omogućava da se prilikom zasejavanja izbegne efekat povišenja osmotskog pritiska same hranljive podloge, što može da rezultuje usporavanjem ili obustavom rasta ćelije (Beney i sar., 2001) i definisan je postupak inokulacije kao i vrednosti procesnih parametara osmotskih rastvora, tabela 4.5.

U tabeli 4.6 prikazani su rezultati broja ispitivanih bakterijskih ćelija u pripremljenom inokulumu, kojim je izvršena kontaminacija vodenog rastvora i melase, na početku procesa, u vremenu 0 h.

Tabela 4.6 Efekat osmotskog stresa na početku procesa (u vremenu 0 h) na odabrane bakterije

Koncentracija (% s. m.)	Broj (srednja vrednost±standardna devijacija) ćelija ($\times 10^3$ cfu/ml)		
	<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.
Inokulum			
-	111,33±2,31 ^a	99,00±1,73 ^a	106,67±5,77 ^a
Vodeni rastvor			
45%	98,00±2,94 ^b	95,83±2,14 ^{a,b}	92,20±1,64 ^{b,c}
52,5%	96,75±2,50 ^b	91,50±3,15 ^{a-c}	91,50±2,35 ^{b,c}
60%	97,00±1,41 ^b	88,00±4,69 ^{b-d}	85,20±3,49 ^c
Melasa			
60%	98,83±5,85 ^b	89,67±2,34 ^{b,c}	97,50±9,40 ^{a,b}
70%	96,00±3,52 ^b	85,33±3,14 ^{c,d}	97,80±4,92 ^{a,b}
80%	95,00±8,56 ^b	80,50±3,21 ^d	96,25±2,06 ^{a,b}

^{a-d} Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p<0,05$ (na osnovu “post-hoc Tukey HSD“ testa)

Iz rezultata, tabela 4.6, se može videti da postoji statistički značajna ($p<0,05$) razlika između vrednosti broja bakterija, koji se nalaze u inokulumu i broja bakterija u vodenom rastvoru i melase u vremenu 0 h, za sve tri ispitivane vrste bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes* i *Salmonella* spp.), pri određenim ostalim procesnim parametrima. Ovi rezultati ukazuju da dolazi do trenutne statistički značajne ($p<0,05$) redukcije broja *E. coli* u svim koncentracijama i vrstama osmotskih rastvora. U slučaju *L. monocytogenes* trenutna statistički značajna ($p<0,05$) redukcija je ostvarena u vodenom rastvoru maksimalne koncentracije i u svim koncentracijama melase. *Salmonella* spp. se trenutno statistički značajno ($p<0,05$) redukovala samo u vodenom rastvoru, svih primenjenih koncentracija. Ovakve redukcije su posledica izlaganja ispitivanih

bakterija sredini sa visokim osmotskim pritiskom, koja nepovoljno deluje na njih (Csonka 1989; Sleator i Hill, 2002).

Iz rezultata, tabela 4.6, se dodatno vidi da postoji trend smanjivanja broja bakterija (za *E. coli* i *Salmonella* spp. nije statistički značajan, dok je za *L. monocytogenes* statistički značajan) sa povećanjem koncentracije osmotskih rastvora, u slučaju oba osmotska rastvora (voden i rastvor i melasa), što je posledica povećanja osmotskog pritiska sa porastom koncentracije analiziranih osmotskih rastvora (Filipović i sar., 2015). Broj *L. monocytogenes* se smanjio u većoj meri u poređenju sa druge dve ispitivane vrste bakterija (*E. coli* i *Salmonella* spp), što je najviše izraženo u eksperimentu sa melasom, najveće koncentracije (80% s. m.).

Rezultati broja bakterija u osmotskim rastvorima u 0 h, tabela 4.6, su uzeti kao osnova za proračun redukcionih odnosa ispitivanih bakterija, jednačina [3.4], u cilju analiziranja i upoređivanja uticaja primenjenih vrednosti procesnih parametara na nivo redukcije ispitivanih bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes* i *Salmonella* spp.) u dva različita osmotska rastvora (voden rastvor i melasa).

U tabelama P.3a i P.3b (datim u prilogu) prikazane su vrednosti redukcionih odnosa ispitivanih bakterija u dva osmotska rastvora (voden rastvor i melasa) pri različitim vremenima i temperaturama procesa i pri različitim koncentracijama osmotskih rastvora.

Maksimalne vrednosti redukcionih odnosa za *E. coli* u oba osmotska rastvora su postignuta nakon 5 časova procesa u rastvorima najvećih koncentracija (60% s. m. za voden rastvor i 80% s. m. za melasu), pri temperaturi procesa od 32 °C i iznosile su 49,22 za voden rastvor i 110,44 za melasu, odnosno smanjenje broja ćelija iskazano u log jedinicama je: 1,69 i 2,04, za voden rastvor i melasu, redom, tabele P.3a i b.

Maksimalna vrednost redukcionog odnosa za *L. monocytogenes* u vodenom rastvoru je iznosila 1305,95 i ona je postignuta nakon 5 h procesa u najkoncentrovanim rastvoru (60% s. m.) pri temperaturi procesa od 44 °C. Vrednosti redukcionih odnosa za *L. monocytogenes* u melasi najveće koncentracije (80% s. m.), nakon 5 časova procesa su se kretale u rasponu od 7750 do 8300. Dobijeni rezultati ukazuju na veoma visok stepen redukcije *L. monocytogenes*, a razlike u vrednostima redukcionih odnosa zavisile su samo od početnog inokulisanog broja *L. monocytogenes* (koji je varirao u okviru vrednosti iskazane standardne devijacije ±3,21), sa obzirom da je za oba osmotska medija rezultat broja *L. monocytogenes* na kraju procesa iznosio <10 cfu/g, tabele P.3a i b.

Maksimalne vrednosti redukcionih odnosa za *Salmonella* spp. u oba osmotska rastvora su postignuta nakon 5 h procesa u rastvorima najvećih koncentracija (60% s. m. za voden

rastvor i 80% s. m. za melasu) i iznosile su 7,25 za vodenim rastvorom na temperaturi procesa od 44 °C i 8,60 za melasu na temperaturi procesa od 32 °C, tabele P.3a i b.

Sa obzirom da broj Enterobacteriaceae predstavlja zbir brojeva prisutnih živih ćelija *E. coli* i *Salmonella* spp., maksimalne vrednosti redukcionih odnosa za Enterobacteriaceae, u oba osmotska rastvora, su postignute nakon 5 h procesa u rastvorima najvećih koncentracija (60% s. m. za vodenim rastvorom i 80% s. m. za melasu), na temperaturi procesa od 32 °C. Postignute vrednosti su iznosile: 14,16 za vodenim rastvorom i 18,59 za melasu, tabele P.3a i b.

Najveće vrednosti redukcionih odnosa za UBB u oba osmotska rastvora su postignute nakon 5 h procesa u rastvorima najvećih koncentracija (60% s. m. za vodenim rastvorom i 80% s. m. za melasu) i iznosile su 16,78 za vodenim rastvorom na temperaturi procesa od 32 °C i 19,24 za melasu na temperaturi procesa od 44 °C. Postignuti rezultati redukcionih odnosa za UBB su slični rezultatima redukcionih odnosa za Enterobacteriaceae, sa obzirom da visoki nivoi redukcije *L. monocytogenes* nisu značajno povećali vrednosti UBB, tabele P.3a i b.

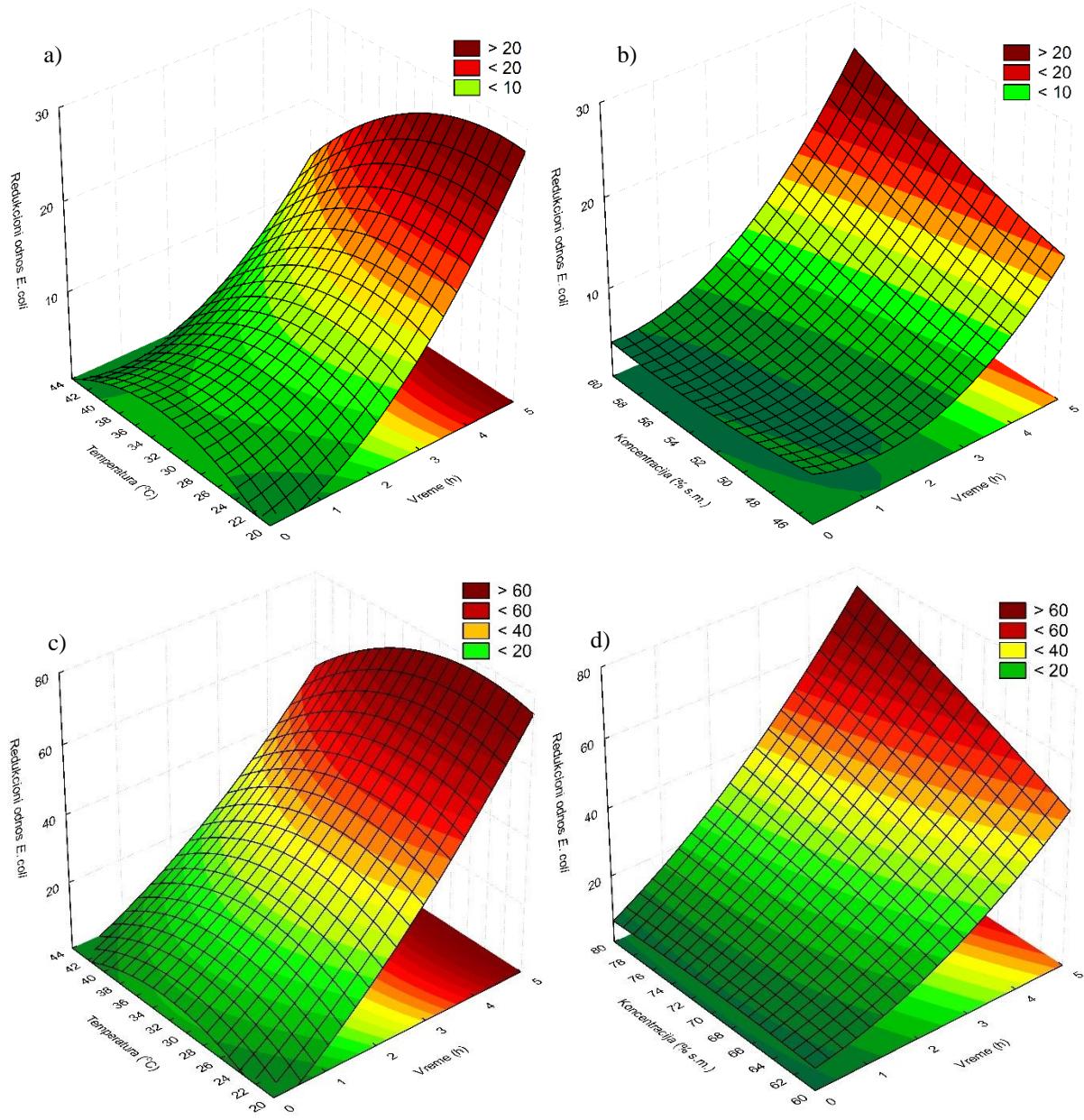
ANOVA eksperimentalnih podataka za redukcione odnose ispitivanih mikroorganizama u osmotskim rastvorima sprovedena je na skupu podataka koji su obuhvatili vrednosti redukcionih odnosa ispitivanih mikroorganizama u oba osmotska rastvora (zbirno za vodenim rastvorom i melasu). Na taj način omogućeno je praćenje statističke značajnosti uticaja četiri procesna parametra (temperatura, vreme, koncentracija i vrsta rastvora) na redukcione odnose ispitivanih mikroorganizama u osmotskim rastvorima.

Statistički značajne ($p<0,05$) razlike su utvrđene između vrednosti redukcionih odnosa, za sve ispitivane vrste bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB), pri različitim koncentracijama osmotskih rastvora, a istim ostalim procesnim parametrima (vremena i temperature) ukazujući da promena koncentracije osmotskog rastvora, odnosno vrednosti osmotskog pritiska, statistički značajno ($p<0,05$) doprinosi promeni vrednosti redukcionog odnosa svih ispitivanih bakterija, tabele P.3a i b.

Na slikama 4.3 do 4.7 dati su grafički prikazi jednačina polinoma drugog reda koji opisuju razvijene modele redukcionih odnosa ispitivanih bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB) u zavisnosti od vrednosti primenjenih procesnih parametara. Na ovim graficima se lakše vizuelno prate trendovi uticaja promene vrednosti procesnih parametara na promene redukcionih odnosa ispitivanih bakterija. Sa slike [od 4.3 b) i d) do 4.7 b) i d)], vidi se da povećanje koncentracija osmotskih rastvora značajno povećava vrednosti redukcionih odnosa svih ispitivanih vrsta bakterija, pri istim ostalim procesnim parametrima (vremena i temperature). Koncentracije oba osmotska rastvora (vodenog rastvora i melase) su u direktnoj korelaciji sa njihovim osmolalnostima, merom osmotske koncentracije

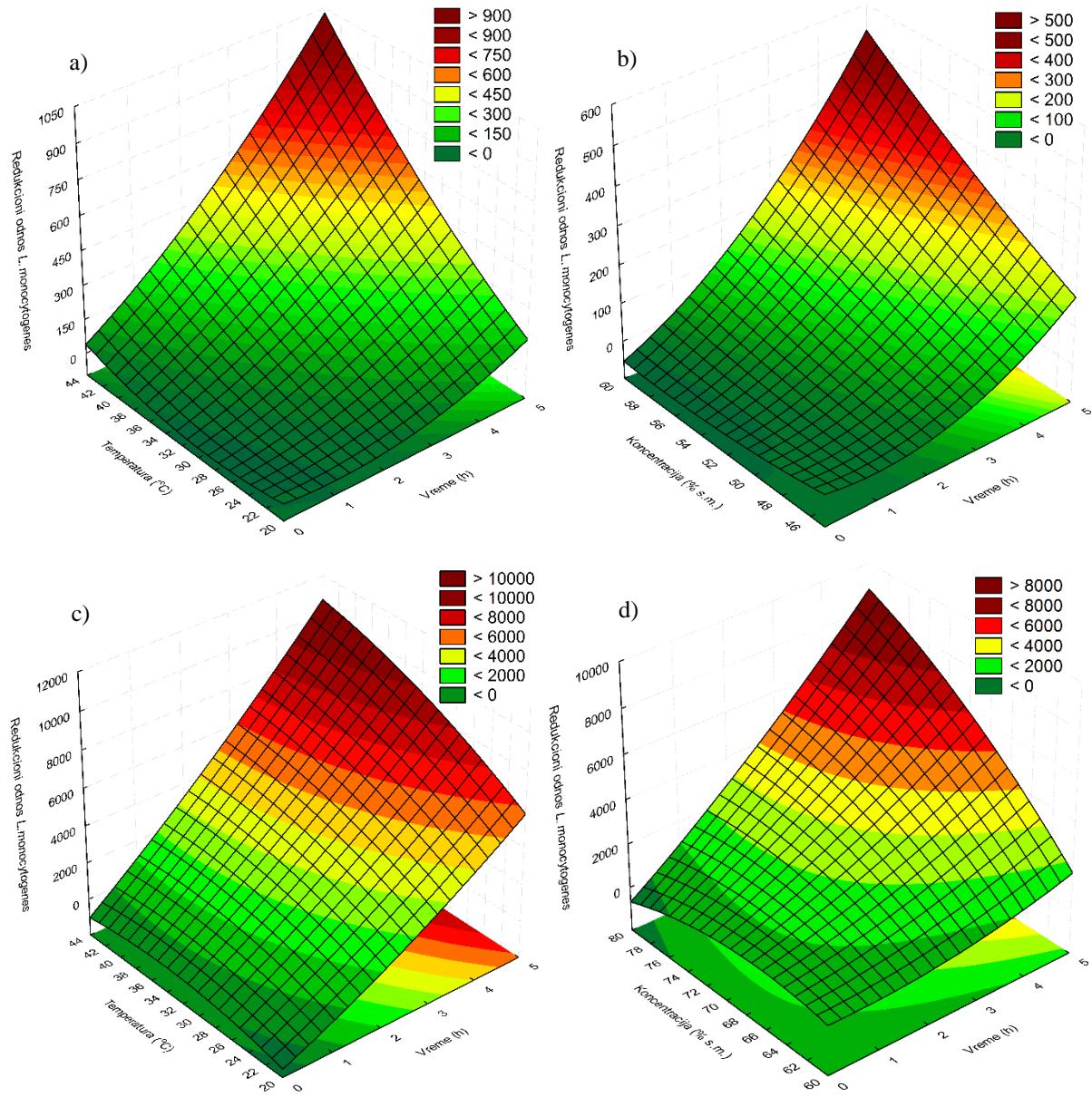
osmotskih rastvora (Filipović i sar., 2015), što ukazuje da je povećanje osmotskog pritiska prouzrokovalo povećanje redukcije svih ispitivanih bakterija (Csonka, 1989; Sleator i Hill, 2002).

Utvrđene su statistički značajne ($p<0,05$) razlike između vrednosti redukcionih odnosa, za sve ispitivane vrste bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB), pri različitim vremenima trajanja procesa (0, 0,5, 1, 2, 3 i 5 h), a istim ostalim procesnim parametrima (koncentracija i temperatura), ukazujući da vreme trajanja procesa statistički značajno ($p<0,05$) doprinosi promeni vrednosti redukcionog odnosa svih ispitivanih vrsta bakterija, tabela P.3a i b. Na slikama od 4.3 a-d) do 4.7 a-d) prikazane su zavisnosti redukcionih odnosa svih ispitivanih vrsta bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB) od vremena i temperature, i od vremena i koncentracije, u oba osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa), sa kojih se može uočiti da produžavanje vremena trajanja procesa značajno utiče na povećanje redukcionih odnosa svih ispitivanih vrsta bakterija pri konstantnim vrednostima ostala dva procesna parametra (koncentracija vodenog rastvora od 60% s. m., melase od 80% s. m. i temperaturu od 32 °C). Redukcija ispitivanih vrsta bakterija je posledica visokog osmotskog pritiska kojem su izložene bakterije u osmotskim rastvorima svih koncentracija. Usled dužeg vremena za ispoljavanje negativnih uticaja visokog osmotskog pritiska na bakterije dolazi i do veće njihove redukcije.



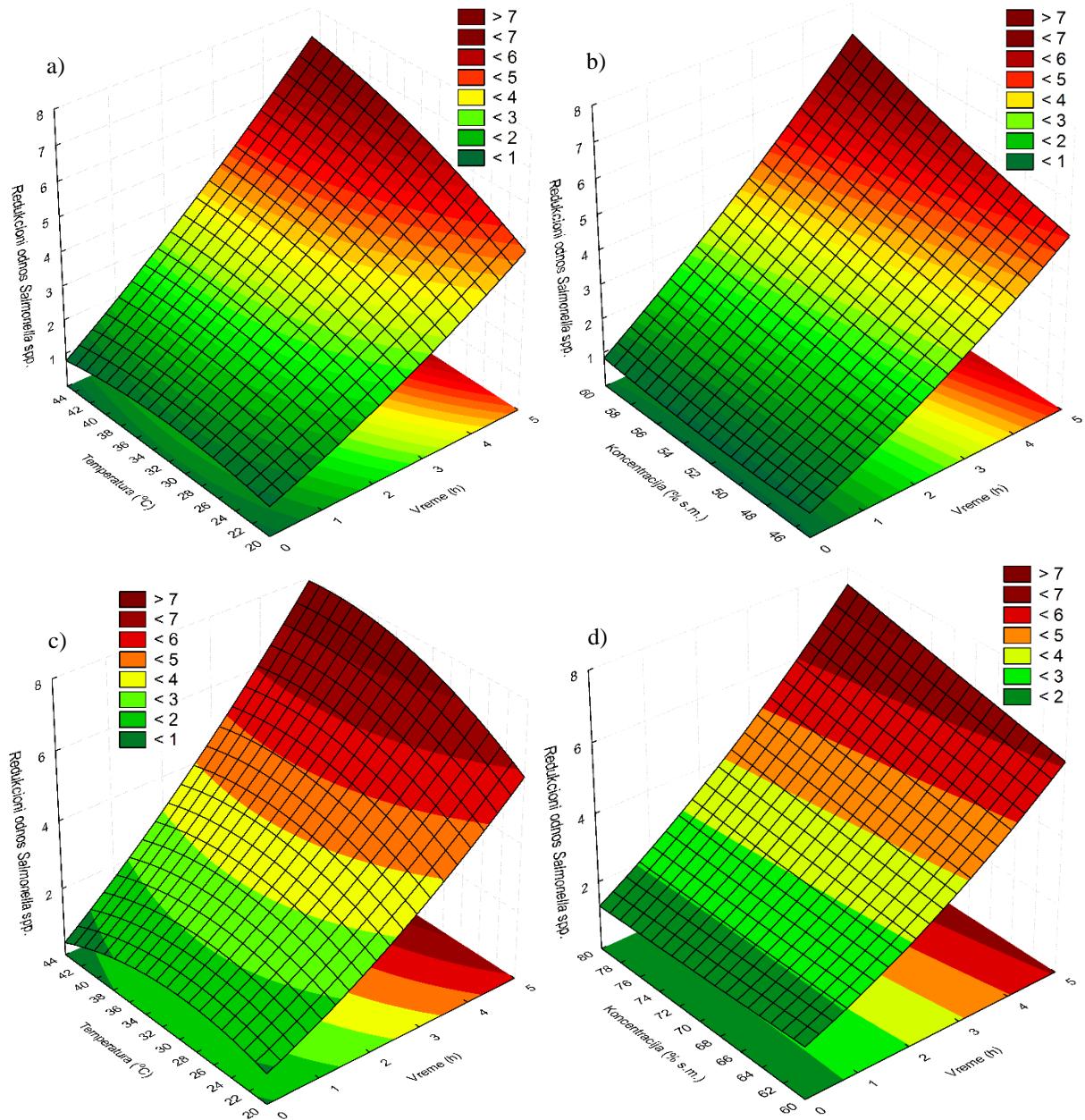
Slika 4.3 Redukcioni odnosi *E. coli* u zavisnosti:

- temperature i vremena trajanja procesa u vodenom rastvoru koncentracije 60% s. m.
- koncentracije vodenog rastvora i vremena trajanja procesa pri temperaturi procesa od 32 °C
- temperature i vremena trajanja procesa u melasi koncentracije 80% s. m.
- koncentracije melase i vremena trajanja procesa pri temperaturi procesa od 32 °C



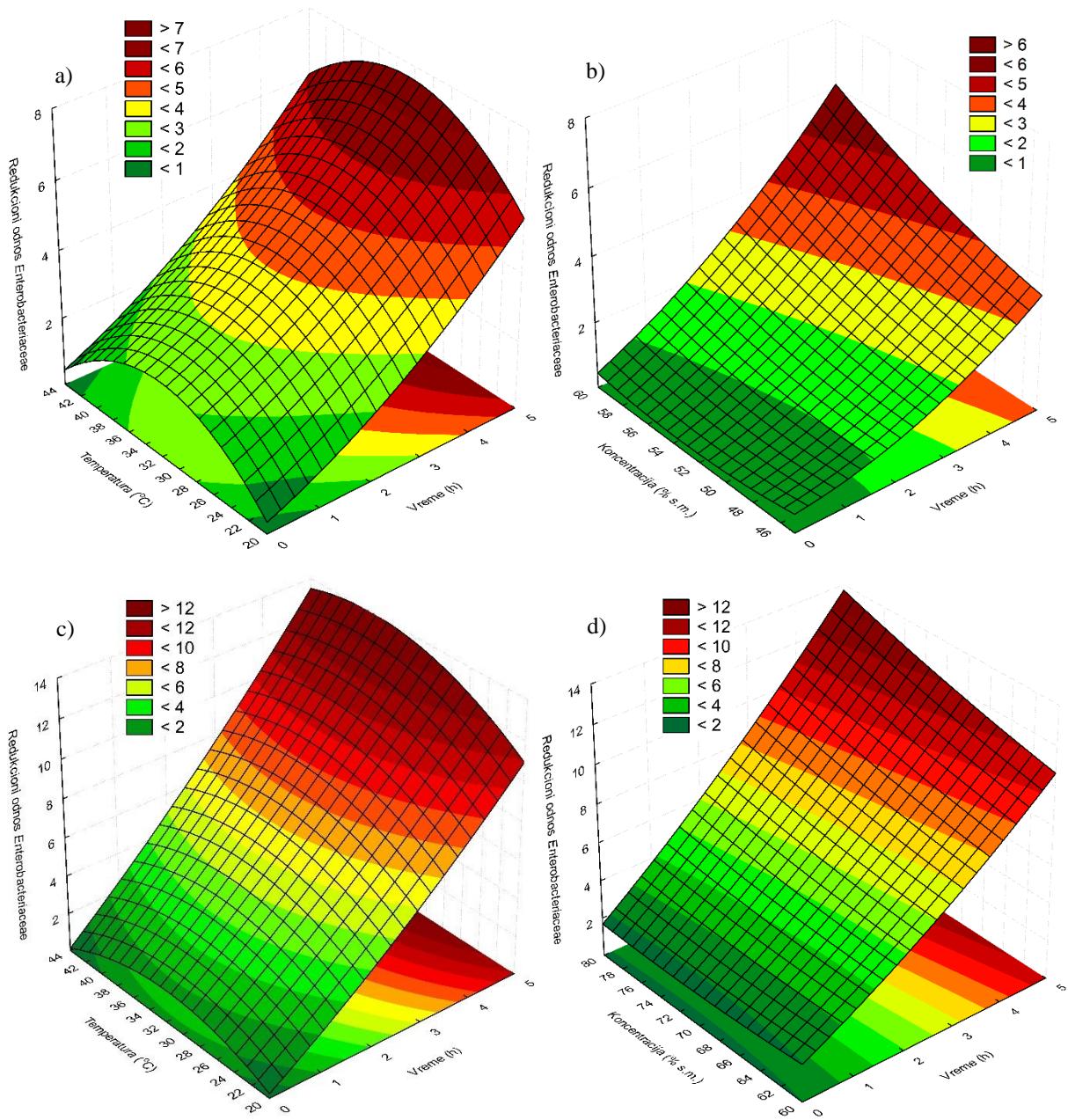
Slika 4.4 Redukcioni odnosi *L. monocytogenes* u zavisnosti od:

- temperature i vremena trajanja procesa u vodenom rastvoru koncentracije 60% s. m.
- koncentracije vodenog rastvora i vremena trajanja procesa pri temperaturi procesa od 32 °C
- temperature i vremena trajanja procesa u melasi koncentracije 80% s. m.
- koncentracije melase i vremena trajanja procesa pri temperaturi procesa od 32 °C



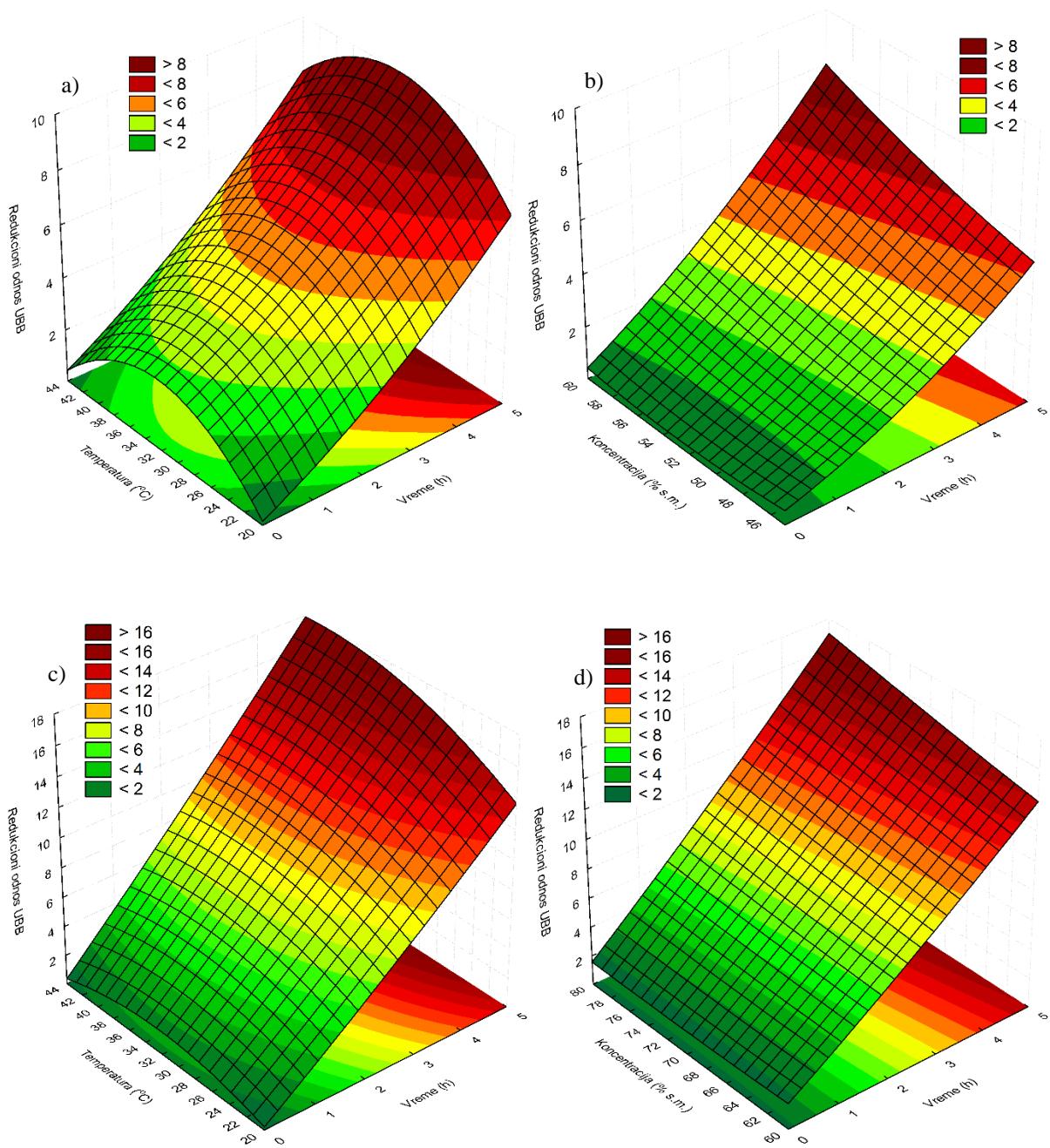
Slika 4.5 Redukcioni odnosi *Salmonella* spp. u zavisnosti od:

- temperature i vremena trajanja procesa u vodenom rastvoru koncentracije 60% s. m.
- koncentracije vodenog rastvora i vremena trajanja procesa pri temperaturi procesa od 32 °C
- temperature i vremena trajanja procesa u melasi koncentracije 80% s. m.
- koncentracije melase i vremena trajanja procesa pri temperaturi procesa od 32 °C



Slika 4.6 Redukcioni odnosi Enterobacteriaceae u zavisnosti od:

- temperature i vremena trajanja procesa u vodenom rastvoru koncentracije 60% s. m.
- koncentracije vodenog rastvora i vremena trajanja procesa pri temperaturi procesa od $32\text{ }^{\circ}\text{C}$
- temperature i vremena trajanja procesa u melasi koncentracije 80% s. m.
- koncentracije melase i vremena trajanja procesa pri temperaturi procesa od $32\text{ }^{\circ}\text{C}$



Slika 4.7 Redukcioni odnosi UBB u zavisnosti od:

- temperature i vremena trajanja procesa u vodenom rastvoru koncentracije 60% s. m.
- koncentracije vodenog rastvora i vremena trajanja procesa pri temperaturi procesa od 32 °C
- temperature i vremena trajanja procesa u melasi koncentracije 80% s. m.
- koncentracije melase i vremena trajanja procesa pri temperaturi procesa od 32 °C

Utvrđene su, takođe i statistički značajne ($p<0,05$) razlike između vrednosti redukcionih odnosa, za sve ispitivane vrste bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB), pri različitim temperaturama procesa (20, 32 i 44 °C), a pri istim ostalim procesnim parametrima (vremena i koncentracije), ukazujući da promena temperature procesa statistički značajno ($p<0,05$) doprinosi promeni vrednosti redukcionog odnosa svih ispitivanih vrsta bakterija, tabele P.3a i b.

Na slikama od 4.3 a) i c) do 4.7 a) i c) prikazana je zavisnost redukcionih odnosa svih ispitivanih vrsta bakterija od vremena i temperature procesa. Uočljivo je da povećanje temperature procesa značajno povećava vrednosti redukcionih odnosa *L. monocytogenes* i *Salmonella* spp., pri istim ostalim procesnim parametrima (vremena i koncentracija), stoga su najveće vrednosti redukcionih odnosa za ove dve vrste bakterija postignuta na temperaturi procesa od 44 °C. Sa slika se takođe vidi da su maksimumi redukcije *E. coli*, pa posledično i za Enterobacteriaceae i UBB postignuti na srednjoj temperaturi procesa od 32 °C, za oba osmotska rastvora (voden i rastvor i melasa).

Rezultati između vrednosti redukcionih odnosa, za sve ispitivane vrste bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB), u dva različita osmotska rastvora, a pri istim svim ostalim procesnim parametrima (temperature, vremena i koncentracije), ukazuju da vrsta osmotskog rastvora statistički značajno ($p<0,05$) utiče na promenu vrednosti redukcionog odnosa svih ispitivanih vrsta bakterija, tabele P.3a i b. Proces u melasi je doveo do postizanja većih redukcionih odnosa svih odabralih vrsta bakterija u poređenju sa vodenim rastvorom, posmatrano pri istim procesnim parametrima (vremena, temperature i koncentracije), slike od 4.3 a-d) do 4.7 a-d). Na primer, vidi se da su postignute vrednosti redukcionih odnosa *E. coli* u melasi više nego duplo veće u poređenju sa postignutim vrednostima u vodenom rastvoru, pri istim vrednostima procesnih parametara (vremena, temperature i koncentracije). Posmatrano za iste koncentracije dva osmotska rastvora (60% s. m. – najniža koncentracija melase i najviša koncentracija vodenog rastvora), u melasi su postignute nešto veće vrednosti redukcionih odnosa *E. coli* (69,78 za melasu i 49,22 za voden rastvor) što ukazuje da sadržaj suve materije nije jedina karakteristika osmotskih rastvora koja utiče na redukcione odnose. Jedno od objašnjenja može biti dokazana značajna antibakterijska aktivnost polifenolnih jedinjenja, flavonoida i jedinjenja fenolnih kiselina koje se nalaze u melasi, na bakterije koje se prenose hranom, kao što su *E. coli*, *L. monocytogenes* i *S. Typhimurium* (Chen i sar., 2017).

Isti uticaj vrste osmotskog rastvora je primećen i za *L. monocytogenes*. U slučaju melase, postignuta je redukcija ispod nivoa detekcije, dok je u vodenom rastvoru bio prisutan

mali broj *L. monocytogenes* (60 cfu/g), pri istim posmatranim parametrima procesa (5h, temperature od 44 °C i koncentracije vodenog rastvora od 60% s. m., melase od 80% s. m.). Ovakvi rezultati su, prilikom proračuna, prouzorokovali veliku razliku u vrednostima redukcionih odnosa *L. monocytogenes* za melasu i vodeni rastvor, tabele P.3a i b.

Uticaj vrste osmotskog rastvora je bio manje izražen na vrednostima redukcionih odnosa ostalih ispitivanih vrsta bakterija (*Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB), ali su u svim slučajevima u melasi postignuti veći redukcioni odnosi posmatranih vrsta bakterija nego u vodenom rastvoru pri istim ostalim procesnim parametrima (vremena, temperature i koncentracije). Kao primer mogu se uporediti redukcioni odnosi za *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB u vodenom rastovu i melasi: 7,25; 3,58 i 5,15 naspram 8,52; 12,56 i 19,24, pri procesnim parametrima od 5h, temperature od 44 °C i koncentracije vodenog rastvora od 60% s. m., melase od 80% s. m.

4.2.1 Matematički modeli redukcionih odnosa mikroorganizama u osmotskim rastvorima

Metod odzivne površine primjenjen je sa ciljem određivanja modela redukcionih odnosa posmatranih vrsta bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB), za vodeni rastvor i melase.

U tabelama 4.7 i 4.8 prikazani su rezultati ANOVA modela odzivnih površina koji su razvijeni na osnovu eksperimentalnih rezultata za redukcione odnose mikroorganizama: *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB u različitim koncentracijama osmotskih rastvora, tokom različitog vremena, na različitim temperaturama i u dva različita osmotska rastvora. Na osnovu ovih rezultata analizirani su statistički značajni ($p<0,05$) efekti procesnih parametara, kao i njihove međuzavisnosti na odzive matematičkog modela (redukcioni odnosi *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB). U metodu odzivne površine korišćen je polinom drugog reda (SOP) u obliku jednačine [3.8] za sve procesne parametre (koncentracija, vreme, temperatura), odnosno nezavisno promenljive veličine.

Na vrednost odziva redukcionih odnosa za *E. coli* i UBB su statistički značajno ($p<0,05$) uticali procesni parametri vremena i temperature, dok koncentracija osmotskog rastvora nije bila statistički značajan ($p<0,05$) procesni parametar, tabela 4.7, a što se takođe može videti i sa slika 4.3 a) i 4.7 a) za uticajnost vremena i temperature, a sa slika 4.3 b) i 4.7 b) se primećuje

manji uticaj koncentracije. ANOVA test pokazuje da na vrednost odziva redukcionih odnosa za *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae statistički značajno ($p<0,05$) utiču sva tri parametra (koncentracija, vreme, temperatura), gde je najuticajniji parametar vreme, pa zatim temperatura, tabela 4.7, što se vizuelno može primetiti i na graficima prikazanim na slikama 4.4, 4.5 i 4.6 pod a) i b).

Tabela 4.7 ANOVA modela redukcionih odnosa za bakterijske kontaminente u vodenom rastvoru

Procesni parametri	Član	df ⁺	Zbir kvadrata				
			<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Enterobacteriaceae	UBB
Koncentracija	Linearni	1	109,559 ns	208105 *	6,9886 *	10,4728 *	12,4452 ns
	Kvadratni	1	6,486 ns	3006 ns	0,1568 ns	0,8558 ns	0,5955 ns
Vreme	Linearni	1	1542,631 *	940120 *	101,8482 *	102,0319 *	212,6194 *
	Kvadratni	1	266,497 *	52841 *	0,5361 *	2,6458 ns	2,5756 ns
Temperatura	Linearni	1	257,531 *	901307 *	8,5751 *	0,4103 ns	2,0924 ns
	Kvadratni	1	238,315 *	44227 *	1,0017 *	39,0416 *	68,4793 *
Proizvod parametara	Koncentracija × Vreme	1	118,555 *	164099 *	3,9940 *	7,6796 ns	8,4783 ns
	Koncentracija × Temperatura	1	5,180 ns	105470 *	0,1736 ns	0,0465 ns	0,0173 ns
	Vreme × Temperatura	1	233,898 *	669654 *	6,5123 *	0,2086 ns	0,3721 ns
Greška	Ostatak varijanse	44	1187,616 ns	243408 ns	5,2821 ns	93,9693 ns	138,6593 ns
	Ukupan zbir kvadrata	53	3782,476	2859554	128,7858	252,6568	440,7206
r ²			0,686	0,915	0,959	0,628	0,685

* Statistički značajno na nivou $p<0,05$

⁺ Broj stepeni slobode

ns Nije statistički značajno

Linearni i kvadratni članovi SOP-a za vreme i temperaturu, kao i član proizvoda koncentracija × vreme i vreme × temperatura su statistički značajno ($p<0,05$) doprineli formiranju matematičkih modela redukcionih odnosa za *E. coli*. Osim kvadratnog člana za koncentraciju, svi ostali članovi statistički značajno ($p<0,05$) doprinose formiranju matematičkog modela za redukcione odnose *L. monocytogenes*. Statistički su značajni ($p<0,05$) članovi svi, osim kvadratnog člana za koncentraciju i člana proizvoda koncentracija × temperatura za matematičke modele za redukcionе odnose *Salmonella* spp. Linearni članovi za koncentraciju i vreme, kao i kvadratni član za temperaturu statistički značajno ($p<0,05$) doprinose modelu SOP-a za redukcionе odnose Enterobacteriaceae. Linearni član za vreme i kvadratni član za temperaturu statistički značajno ($p<0,05$) doprinose formiranju SOP matematičkih modela za redukcionе odnose za UBB, tabela 4.7.

Ostatak varijanse nije bio statistički značajan ($p<0,05$) ni u jednom slučaju, tabela 4.7, što ukazuje da su primjenjeni modeli za odziv redukcionih odnosa ispitivanih bakterija u vodenom rastvoru, pri datim procesnim parametrima, bili adekvatni. Vrednosti koeficijenata korelacije r^2 su bile visoke za *L. monocytogenes* i *Salmonella* spp. (0,915 i 0,959) koji ukazuju na kriterijum zdravstvene bezbednosti proizvoda i zadovoljavajuće za Enterobacteriaceae, UBB i *E. coli* (od 0,628 do 0,686) koji predstavljaju parametre higijene procesa, ukazujući na dobro i zadovoljavajuće poklapanje modela SOP-a sa izmerenim eksperimentalnim vrednostima.

Tabela 4.8 ANOVA modela redukcionih odnosa za bakterijske kontaminente u melasi

Procesni parametri	Član	df ⁺	Zbir kvadrata				
			<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Enterobacteriaceae	UBB
Koncentracija	Linearni	1	1623,90 *	779269399 *	2,8765 *	15,4561 *	17,601 *
	Kvadratni	1	8,88 ns	6047846 ns	0,0029 ns	0,4075 ns	0,068 ns
Vreme	Linearni	1	17796,76 *	186469149 *	181,7537 *	664,5954 *	1186,986 *
	Kvadratni	1	350,29 ns	1671232 ns	1,3794 *	2,4138 ns	0,662 ns
Temperatura	Linearni	1	494,80 ns	36530771 *	3,9296 *	10,2019 *	32,370 *
	Kvadratni	1	1402,36 *	4482601 ns	4,9605 *	26,9736 *	19,387 *
Proizvod parametara	Koncentracija × Vreme	1	867,44 *	68088261 *	2,9751 *	11,6792 *	11,339 *
	Koncentracija × Temperatura	1	33,44 ns	2249976 ns	0,0177 ns	0,0577 ns	0,229 ns
	Vreme × Temperatura	1	565,89 *	20565520 *	6,8356 *	7,4974 *	17,492 *
Greška	Ostatak varijanse	44	5605,65 ns	134415433 ns	13,1379 ns	73,8782 ns	50,045 ns
	Ukupan zbir kvadrata	53	27892,47	489304771	213,7571	801,8810	1317,615
r^2			0,799	0,725	0,939	0,908	0,962

* Statistički značajno na nivou $p<0,05$

⁺ Broj stepeni slobode

ns Nije statistički značajno

U tabeli 4.8 prikazana je ANOVA modela redukcionih odnosa odabranih bakterija u melasi. Na osnovu ANOVA testa praćenih odziva u melasi kao osmotskom rastvoru, vidi se da su na vrednost odziva redukcionih odnosa za sve ispitivane bakterije (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB), statistički značajno ($p<0,05$) uticala sva tri procesna parametra (koncentracija, vreme i temperatura), sa tim što se kao najuticajniji parametar pokazalo vreme, što se može videti i na slikama od 4.3 do 4.7 pod c) i d). Za razliku od modela redukcionih odnosa za *E. coli* u vodenom rastvoru, koncentracija statistički značajno ($p<0,05$) utiče na formiranje modela redukcionih odnosa za *E. coli* u melasi, ukazujući na veći

uticaj promene koncentracije melase nego vodenog rastvora. Primetna je razlika u značajnostima uticaja procesnih parametara između redukcionih odnosa za UBB u melasi i vodenom rastvoru, gde koncentracija statistički značajno ($p<0,05$) utiče na formiranje modela redukcionih odnosa za UBB u melasi.

Kvadratni članovi SOP-a za temperaturu i linearni članovi za koncentraciju i vreme statistički značajno ($p<0,05$) doprinose formiranju modela redukcionih odnosa za *E. coli*. Dodatno, i član proizvoda vreme \times temperatura je statistički značajan ($p<0,05$). Sva tri linearna člana procesnih parametara koncentracije, vremena i temperature, statistički značajno ($p<0,05$) doprinose modelu SOP-a za *L. monocytogenes*, dok članovi proizvoda parametara statistički su značajni ($p<0,05$) u slučaju koncentracija \times vreme i vreme \times temperatura. Sva tri linearna člana procesnih parametara zajedno sa kvadratnim članom za temperaturu i članovima proizvoda koncentracija \times vreme i vreme \times temperatura statistički značajno ($p<0,05$) doprinose modelima SOP-a za *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB, dok je u slučaju modela za *Salmonella* spp. statistički značajan ($p<0,05$) i kvadratni član za vreme. Primetna je razlika u značajnostima uticaja pojedinačnih članova između redukcionih odnosa za UBB u melasi i vodenom rastvoru, gde su za model redukcionih odnosa za UBB u melasi dodatni statistički značajni linearni članovi za koncentraciju i vreme i članovi proizvoda parametara koncentracije \times vremena i vremena \times temperature.

Ostatak varijanse nije bio statistički značajan ($p<0,05$) ni u jednom slučaju, što ukazuje da su primjenjeni modeli za odziv redukcionih odnosa ispitivanih bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB), u melasi, pri datim opsezima procesnih parametara, bili adekvatani. Vrednosti koeficijenata korelacije r^2 su bile zadovoljavajuće (od 0,725 do 0,962) ukazujući na dobro poklapanje modela SOP-a sa izmerenim eksperimentalnim vrednostima.

U tabeli 4.9 prikazani su regresioni koeficijenti jednačina SOP-a za pet matematičkih modela redukcionih odnosa posmatranih vrsta bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB), za oba osmotska rastvora (voden rastvor i melasa). U tabeli su naznačene i statističke značajnosti ($p<0,05$) pojedinačnih koeficijenata koji se mogu koristiti za formiranje kvadratnih jednačina koje opisuju matematičke modele redukcije posmatranih vrsta bakterija u datim osmotskim rastvorima (voden rastvor i melasa). Na osnovu ovih jednačina i poznatih ulaznih veličina, odnosno vrednosti procesnih parametara koncentracije, vremena i temperature računskim putem mogu se dobiti vrednosti željenih odziva (redukcionih odnosa: *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae, UBB).

Tabela 4.9 Regresioni koeficijenti polinoma drugog stepena za pet modela redukcionih odnosa posmatranih bakterija za oba osmotska rastvora

Regresioni koeficijenti	<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Enterobacteriaceae	UBB
Vodeni rastvor					
β_0	3,00227 ns	2619,327 *	6,66588 ns	3,90260 ns	-2,64819 ns
β_1	-1,31832 ns	-55,680 ns	-0,24704 ns	-0,52900 ns	-0,43799 ns
β_{11}	0,01307 ns	0,281 ns	0,00203 ns	0,00475 ns	0,00396 ns
β_2	-4,77120 ns	-478,431 *	-1,43467 *	-1,65966 ns	-1,43078 ns
β_{22}	0,88800 *	12,504 *	0,03983 *	0,08848 ns	0,08730 ns
β_3	2,32946 *	-68,484 *	0,06950 ns	0,77604 *	1,05477 *
β_{33}	-0,03095 *	0,422 *	-0,00201 *	-0,01253 *	-0,01659 *
β_{12}	0,14287 ns	5,316 *	0,02622 *	0,03636 ns	0,03821 ns
β_{13}	-0,00516 ns	0,737 *	0,00094 ns	0,00049 ns	0,00030 ns
β_{23}	-0,12543 *	6,711 *	0,02093 *	0,00375 ns	0,00500 ns
Melasa					
β_0	-137,843 ns	-29461,2 ns	3,69538 *	2,25767 ns	-1,25864 ns
β_1	1,505 ns	864,8 ns	0,59794 *	-0,28585 ns	-0,14069 ns
β_{11}	-0,009 ns	-7,1 ns	0,03101 ns	0,00184 ns	0,00076 ns
β_2	-8,417 ns	-6128,9 *	5,41662 *	-1,42389 ns	-0,87022 ns
β_{22}	1,018 ns	70,3 ns	0,79858 *	0,08451 ns	0,04427 ns
β_3	5,654 *	88,8 ns	0,69887 *	0,62851 *	0,50582 *
β_{33}	-0,075 *	-4,2 ns	-1,28589 *	-0,01041 *	-0,00883 *
β_{12}	0,290 *	81,2 *	0,84874 *	0,03363 *	0,03314 *
β_{13}	-0,010 ns	2,6 ns	0,05435 ns	0,00041 ns	0,00081 ns
β_{23}	-0,195 *	37,2 *	1,28651 *	0,02246 *	0,03430 *

* Statistički značajno na nivou p<0,05

ns Nije statistički značajno

4.3 UTICAJ VREDNOSTI PROCESNIH PARAMETARA NA PREŽIVLJAVANJE MIKROORGANIZAMA NA MESU PILEĆIH GRUDI TOKOM PROCESA OSMOTSKE DEHIDRATACIJE

Nakon definisanja uticaja osmotskog stresa, koji je posledica visokih osmotskih pritisaka koji vladaju u ispitivanim osmotskim rastvorima, na vijabilnost odabranih vrsta bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes* i *Salmonella* spp.), ispitivani su uticaji realnog procesa osmotske dehidratacije na preživljavanje ispitivanih vrsta bakterija koje su inokulisane na mesu pilećih grudi – sirovini koja se osmotski dehidrira. Ovom analizom može se proceniti pogodnost procesa osmotske dehidratacije sa aspekta zdravstvene bezbednosti.

U tabeli 4.10 prikazani su rezultati preliminarnog ogleda ispitivanja nivoa homogenosti inokulacije kockica mesa pilećih grudi sa odabranim bakterijama (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae).

Tabela 4.10 Homogenost broja ćelija (cfu/g) na uzorcima mesa pilećih grudi inokulisanih sa odabranim bakterijskim kontaminentima

Redni broj uzorka kockica mesa pilećih grudi	Srednja vrednost broja bakterija dva paralelna ispitivanja jednog uzorka (cfu/g)			
	<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella spp.</i>	Enterobacteriaceae
1	47000	42500	46500	96500
2	47500	45000	47500	96000
3	47500	43500	46500	97500
4	45500	46000	46000	97000
5	48500	43500	45000	95500
6	47000	41500	48000	96000
7	49000	45000	47500	98500
8	47000	41500	46500	97000
9	49500	44000	45000	99000
10	47000	42500	47500	96500
Srednja vrednost broja bakterija (cfu/g)	47550	43500	46600	96950
Standardna devijacija	1165,5	1527,53	1048,81	1116,79
Koeficient varijacije (%)	2,45	3,51	2,25	1,15

Na osnovu rezultata se može videti da se nivo homogenosti inokulacije kockica mesa pilećih grudi odabranim vrstama bakterija, analiziran kroz parametar koeficijenta varijacije, (Pezo i sar., 2018), kretao od 1,15 do 3,51%, za sve ispitivane vrste bakterija. Najviši koeficijent varijacije, koji je dođen pri inokulaciji *L. monocytogenes*, (3,51%) je na zadovoljavajućem nivou homogenosti kontaminacije uzorka [vrednosti koeficijenta varijacije ispod 5% se

smatraju dobrom (Pezo i sar., 2018)], te je stoga usvojen opisani metod inokulacije uzorka mesa pilećih grudi.

U tabeli 4.11 prikazani su rezultati preliminarnog ogleda uticaja procesa osmotske dehidratacije u melasi tokom 5 h na bakterije na veštački inokulisanom mesu pilećih grudi, gde je cilj bio utvrditi nivo kontaminacije mesa pilećih grudi pre procesa i nivo redukcije nakon procesa osmotske dehidratacije.

Tabela 4.11 Preliminarni rezultati uticaja pocesa osmotske dehidratacije na bakterije na veštački inokulisanom mesu pilećih grudi u različitim nivoima kontaminacije

Nivo kontaminacije	Uzorak	Broj ćelija [\log_{10} (cfu/ml ili g)]		
		<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.
1	Procenjeni (nefelometrijski) broj ćelija u inokulacionoj suspenziji	3,18	3,18	3,18
	Utvrđeni broj ćelija u inokulacionoj suspenziji	3,08	3,15	3,15
	Broj ćelija na mesu pilećih grudi nakon inokulacije*	3,00	2,95	3,04
	Broj ćelija na mesu pilećih grudi nakon procesa	1,00	1,00	2,30
2	Procenjeni (nefelometrijski) broj ćelija u inokulacionoj suspenziji	4,18	4,18	4,18
	Utvrđeni broj ćelija u inokulacionoj suspenziji	4,15	4,08	4,11
	Broj ćelija na mesu pilećih grudi nakon inokulacije*	4,08	3,95	4,00
	Broj ćelija na mesu pilećih grudi nakon procesa	2,48	1,60	3,30
3	Procenjeni (nefelometrijski) broj ćelija u inokulacionoj suspenziji	4,70	4,70	4,70
	Utvrđeni broj ćelija u inokulacionoj suspenziji	4,68	4,65	4,67
	Broj ćelija na mesu pilećih grudi nakon inokulacije*	4,66	4,61	4,65
	Broj ćelija na mesu pilećih grudi nakon procesa	3,08	2,00	4,00

* Broj ćelija utvrđen na uzorku mesa pilećih grudi koje je nakon veštačke kontaminacije ostavljen 60 minuta na sobnoj temperaturi, radi adheriranja inokulisanih bakterija

Rezultati za *E. coli* i *L. monocytogenes* ukazuju da je došlo do redukcije broja ćelija i do 2,70 log jedinica, za sva tri nivoa kontaminacije. Rezultati za *Salmonella* spp. ukazuju da je

došlo do manje redukcije nakon tretmana i da je redukcija bila ujednačena za sva tri nivoa kontaminacije i iznosila je od 0,70 do 0,88 log jedinica.

Na osnovu dobijenih niskih rezultata preživljavanja bakterija *E. coli* i *L. monocytogenes*, tabela 4.11, usvojen je nivo kontaminacije 3 i definisan je postupak inokulacije, kao i uslovi čuvanja, uzoraka mesa pilećih grudi, koji su opisani u poglavlju 3.2.3. Uticaj vrednosti procesnih parametara na preživljavanje mikroorganizama na mesu pilećih grudi tokom procesa osmotske dehidratacije.

U tabeli 4.12 prikazani su rezultati određivanja broja ćelija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae) veštački inokulisanih na uzorcima mesa pilećih grudi, u zavisnosti od vremena procesa i koncentracije dva različita osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa). Temperatura procesa bila je 32 °C, a odabrana je na osnovu rezultata analize uticaja procesnih parametara osmotskih rastvora na vijabilnost ispitivanih vrsta bakterija.

Početni nivo kontaminacije uzoraka mesa pilećih grudi (označen sa: start procesa 1 i 2 – nakon stajanja 60 minuta na sobnoj temperaturi posle inokulacije i pre nego što su kontaminirani uzorci mesa pilećih grudi potopljeni u osmotske rastvore) bio je sličan za sva tri bakterijska kontaminuenta (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp.) i kretao se od 42000 do 49000 cfu/g, tabela 4.12. Dobijeni rezultati nisu se mnogo razlikovali od procenjenog (nefelometrijskog) broja ćelija u pripremljenim inokulacionim suspenzijama (50000 cfu/g za sve tri vrste bakterija). Sa protokom vremena dolazilo je do različitog smanjenja broja posmatranih bakterija, što je zavisilo od primenjenih procesnih parametara procesa osmotske dehidratacije. Smanjenje broja posmatranih bakterija bilo je različito, usled njihove različite tolerancije na primenjene nepovoljne uticaje procesa osmotske dehidratacije. Minimalne vrednosti broja bakterija su bile 100 cfu/g za *L. monocytogenes*, 1.100 cfu/g za *E. coli*, 9800 cfu/g za *Salmonella* spp. i 12000 cfu/g za Enterobacteriaceae, nakon 5 h procesa osmotske dehidratacije u melasi najviše koncentracije od 80%.

Tabela 4.12 Promena broja ćelija bakterijskih kontaminenata na mesu pilećih grudi tokom procesa osmotske dehidratacije

Vreme (h)	Koncen- tracija (% s. m.)	Broj ćelija [\log_{10} (cfu/g)]							
		<i>E. coli</i>		<i>L. monocytogenes</i>		<i>Salmonella</i> spp.		Enterobacteriaceae	
		Ponavljanje I	Ponavljanje II	Ponavljanje I	Ponavljanje II	Ponavljanje I	Ponavljanje II	Ponavljanje I	Ponavljanje II
Vodeni rastvor									
Start procesa 1 *		4,67	4,68	4,63	4,65	4,67	4,65	4,99	4,98
0,5	45	4,66	4,64	4,18	4,23	4,65	4,63	4,97	4,96
1	45	4,59	4,62	4,00	4,04	4,59	4,60	4,92	4,92
2	45	4,52	4,56	3,92	3,89	4,48	4,51	4,81	4,85
3	45	4,28	4,32	3,32	3,38	4,43	4,40	4,68	4,70
5	45	3,71	3,68	3,00	3,08	4,30	4,26	4,43	4,41
0,5	52,5	4,65	4,66	4,04	3,95	4,63	4,62	4,95	4,96
1	52,5	4,58	4,61	3,91	3,92	4,57	4,54	4,89	4,89
2	52,5	4,49	4,45	3,83	3,85	4,46	4,43	4,79	4,77
3	52,5	4,20	4,26	3,11	3,18	4,36	4,40	4,62	4,65
5	52,5	3,61	3,65	2,60	2,78	4,18	4,23	4,34	4,36
0,5	60	4,63	4,66	3,91	3,90	4,58	4,56	4,92	4,93
1	60	4,53	4,58	3,74	3,76	4,52	4,51	4,85	4,86
2	60	4,38	4,43	3,15	3,11	4,43	4,41	4,72	4,74
3	60	4,04	3,99	2,97	3,04	4,34	4,28	4,54	4,52
5	60	3,30	3,26	2,48	2,60	4,08	4,00	4,18	4,15
Melasa									
Start procesa 2 *		4,69	4,67	4,62	4,64	4,66	4,68	4,99	5,00
0,5	60	4,67	4,65	3,73	3,75	4,63	4,62	4,96	4,97
1	60	4,63	4,60	3,58	3,61	4,58	4,56	4,92	4,90
2	60	4,28	4,23	3,38	3,43	4,48	4,53	4,72	4,73
3	60	3,91	3,89	3,00	3,11	4,38	4,41	4,56	4,57
5	60	3,28	3,20	2,78	2,78	4,28	4,20	4,34	4,32
0,5	70	4,63	4,61	3,58	3,56	4,61	4,61	4,93	4,93
1	70	4,60	4,58	3,43	3,46	4,53	4,56	4,88	4,88
2	70	3,81	3,79	3,18	3,26	4,48	4,45	4,58	4,57
3	70	3,59	3,57	2,78	2,70	4,30	4,38	4,41	4,46
5	70	3,20	3,11	2,30	2,30	4,18	4,11	4,26	4,28
0,5	80	4,61	4,58	3,51	3,46	4,56	4,58	4,90	4,91
1	80	4,57	4,53	3,32	3,38	4,52	4,46	4,86	4,84
2	80	3,79	3,77	2,95	3,04	4,43	4,41	4,56	4,53
3	80	3,46	3,41	2,60	2,78	4,28	4,32	4,40	4,41
5	80	3,04	3,11	2,00	2,00	3,99	4,04	4,08	4,15

* Start procesa 1 i 2 = Broj ćelija utvrđen na uzorku mesa pilećih grudi koje je nakon veštačke kontaminacije ostavljeno 60 minuta na sobnoj temperaturi, radi adheriranja inokulisanih bakterija, u dva ogleda, za različite osmotske rastvore

U cilju analize uticaja vrednosti procesnih parametara pocesa osmotske dehidratacije u dva osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa), na preživljavanje bakterija na mesu pilećih grudi, a usled različitog početnog broja bakterija (0 h) za dva osmotska rastvora, tabela 4.12,

kao i u slučaju analize uticaja procesnih parametara osmotskih rastvora na preživljavanje mikroorganizama, poglavljje 4.2, proračunati su redukcioni odnosi ispitivanih vrsta bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae). Rezultati broja bakterija na mesu pilećih grudi pre procesa (označeno kao „start procesa“ - broj ćelija utvrđen na uzorku mesa pilećih grudi koje je nakon veštačke kontaminacije ostavljeno 60 minuta na sobnoj temperaturi, radi adheriranja inokulisanih bakterija) uzeti su kao osnova za proračun redukcionih odnosa, jednačina [3.4]. U tabeli 4.13 prikazane su vrednosti redukcionih odnosa ispitivanih vrsta bakterija na mesu pilećih grudi u dva osmotska rastvora pri različitim vremenima procesa i pri različitim koncentracijama osmotskih rastvora.

Maksimalne vrednosti redukcionih odnosa za sve ispitivane bakterije (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae) na mesu pilećih grudi u oba osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa) su postignute nakon 5 h procesa u rastvorima najvećih koncentracija (60% s. m. za vodeni rastvor i 80% s. m. za melasu) i iznosile su: za *E. coli*: 25,07 za vodeni rastvor i 40,28 za melasu; za *L. monocytogenes*: 128,33 za vodeni rastvor i 430,00 za melasu; za *Salmonella* spp.: 4,22 za vodeni rastvor i 4,53 za melasu; za Enterobacteriaceae: 6,77 za vodeni rastvor i 7,58 za melasu.

Postignute vrednosti redukcionih odnosa *L. monocytogenes* bile su najveće od svih ispitivanih bakterija, kao i u slučaju ispitivanja redukcije bakterija koje su se nalazile direktno u osmotskim rastvorima, tabela P.3 a i b. Vrednosti redukcionih odnosa za *Salmonella* spp. na mesu pilećih grudi su bile najmanje u poređenju sa ostalim vrstama bakterija. Sa obzirom da broj Enterobacteriaceae predstavlja zbir brojeva prisutnih bakterija *E. coli* i *Salmonella* spp., vrednosti redukcionih odnosa za Enterobacteriaceae na mesu pilećih grudi su bile slične vrednostima redukcionih odnosa za *Salmonella* spp. na mesu pilećih grudi.

ANOVA eksperimentalnih podataka za redukcione odnose ispitivanih mikroorganizama na mesu pilećih grudi sprovedena je na skupu podataka koji su obuhvatili vrednosti redukcionih odnosa ispitivanih mikroorganizama na mesu pilećih grudi dehidriranom u oba osmotska rastvora (zbirno za vodeni rastvor i melasu). Na taj način omogućeno je praćenje statističke značajnosti uticaja tri procesna parametra (vreme, koncentracija i vrsta rastvora) na redukcione odnose ispitivanih mikroorganizama na mesu pilećih grudi.

Analizirajući rezultate u tabeli 4.13, uočavaju se statistički značajne ($p<0,05$) razlike između vrednosti redukcionih odnosa svih ispitivanih vrsta bakterija na mesu pilećih grudi pri različitim vremenima trajanja procesa osmotske dehidratacije, pri različitim koncentracijama istih osmotskih rastvora i između različitih osmotskih rastvora.

Tabela 4.13 Redukcioni odnosi za bakterijske kontaminente na mesu pilećih grudi

R. br.	Vreme (h)	Koncen- tracija (% s. m.)	Redukcioni odnos (srednja vrednost±standardna devijacija)			
			<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Enterobacteriaceae
Vodeni rastvor						
1	0	45	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a
2	0,5	45	1,06±0,03 ^a	2,76±0,24 ^a	1,05±0,03 ^a	1,06±0,01 ^a
3	1	45	1,17±0,06 ^a	4,20±0,28 ^{a,b}	1,16±0,02 ^{a,b}	1,17±0,01 ^{a,b}
4	2	45	1,38±0,08 ^a	5,48±0,34 ^{a,b}	1,49±0,07 ^{a-d}	1,45±0,08 ^{a-d}
5	3	45	2,38±0,17 ^{a,b}	19,64±1,85 ^{a-g}	1,77±0,10 ^{c-e}	2,00±0,06 ^{e,f}
6	5	45	9,60±0,41 ^{a-f}	40,33±5,19 ^{f,g}	2,43±0,18 ^{g-i}	3,70±0,10 ⁱ
7	0	52,5	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a
8	0,5	52,5	1,04±0,02 ^a	4,44±0,63 ^{a,b}	1,08±0,02 ^a	1,08±0,01 ^{a,b}
9	1	52,5	1,20±0,06 ^a	5,33±0,05 ^{a,b}	1,28±0,05 ^{a-c}	1,26±0,01 ^{a,b}
10	2	52,5	1,61±0,11 ^a	6,33±0,19 ^{a-c}	1,64±0,08 ^{b-d}	1,62±0,06 ^{b-e}
11	3	52,5	2,80±0,23 ^{a,b}	31,59±3,19 ^{c-g}	1,92±0,11 ^{d-g}	2,56±0,11 ^{f,g}
12	5	52,5	11,07±0,72 ^{e,f}	91,67±25,93 ^h	2,89±0,26 ^{i,j}	4,36±0,14 ^{j,k}
13	0	60	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a
14	0,5	60	1,07±0,05 ^a	5,50±0,10 ^{a,b}	1,24±0,05 ^{a-c}	1,16±0,01 ^{a,b}
15	1	60	1,32±0,10 ^a	7,86±0,20 ^{a-d}	1,42±0,03 ^{a-d}	1,36±0,03 ^{a-d}
16	2	60	1,87±0,16 ^{a,b}	32,64±1,71 ^{d-g}	1,74±0,05 ^{c-e}	1,82±0,05 ^{c-f}
17	3	60	4,61±0,41 ^{a-c}	43,40±4,81 ^g	2,26±0,23 ^{e-h}	2,88±0,12 ^h
18	5	60	25,07±1,87 ^h	128,33±25,93 ⁱ	4,22±0,54 ^k	6,77±0,33 ^m
Melasa						
19	0	60	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a
20	0,5	60	1,04±0,03 ^a	7,82±0,20 ^{a-d}	1,11±0,02 ^a	1,05±0,02 ^a
21	1	60	1,16±0,06 ^a	10,90±0,59 ^{a-d}	1,27±0,05 ^{a-c}	1,21±0,04 ^{a,b}
22	2	60	2,67±0,21 ^{a,b}	16,92±1,41 ^{a-f}	1,47±0,13 ^{a-d}	1,85±0,05 ^{d-f}
23	3	60	6,04±0,16 ^{b-d}	38,04±7,02 ^{e-g}	1,88±0,11 ^{d-f}	2,69±0,05 ^{g,h}
24	5	60	27,63±3,35 ^h	71,67±0,00 ^h	2,71±0,33 ^{h,i}	4,56±0,15 ^k
25	0	70	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a
26	0,5	70	1,14±0,04 ^a	11,63±0,44 ^{a-d}	1,15±0,00 ^{a,b}	1,15±0,01 ^{a,b}
27	1	70	1,23±0,04 ^a	15,38±0,78 ^{a-f}	1,34±0,05 ^{a-c}	1,30±0,01 ^{a-c}
28	2	70	7,63±0,34 ^{c-e}	26,28±3,38 ^{b-g}	1,62±0,08 ^{b-d}	2,61±0,05 ^{g,h}
29	3	70	12,64±0,47 ^f	78,83±10,14 ^h	2,15±0,28 ^{f-h}	3,57±0,28 ⁱ
30	5	70	33,46±4,89 ⁱ	215,00±0,00 ^j	3,37±0,34 ^j	5,30±0,20 ^l
31	0	80	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a	1,00±0,00 ^a
32	0,5	80	1,22±0,07 ^a	14,13±0,98 ^{a-e}	1,27±0,05 ^{a-c}	1,22±0,01 ^{a,b}
33	1	80	1,35±0,08 ^a	19,20±1,81 ^{a-g}	1,52±0,14 ^{a-d}	1,39±0,04 ^{a-d}
34	2	80	7,94±0,28 ^{c-e}	43,43±6,14 ^g	1,77±0,05 ^{c-e}	2,80±0,11 ^h
35	3	80	17,51±1,35 ^g	89,59±25,34 ^h	2,36±0,17 ^{f-i}	3,84±0,11 ^{i,j}
36	5	80	40,28±4,74 ^j	430,00±0,00 ^k	4,53±0,37 ^k	7,58±0,82 ⁿ

^{a-n} Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od p<0,05 (na osnovu "post-hoc Tukey HSD" testa)

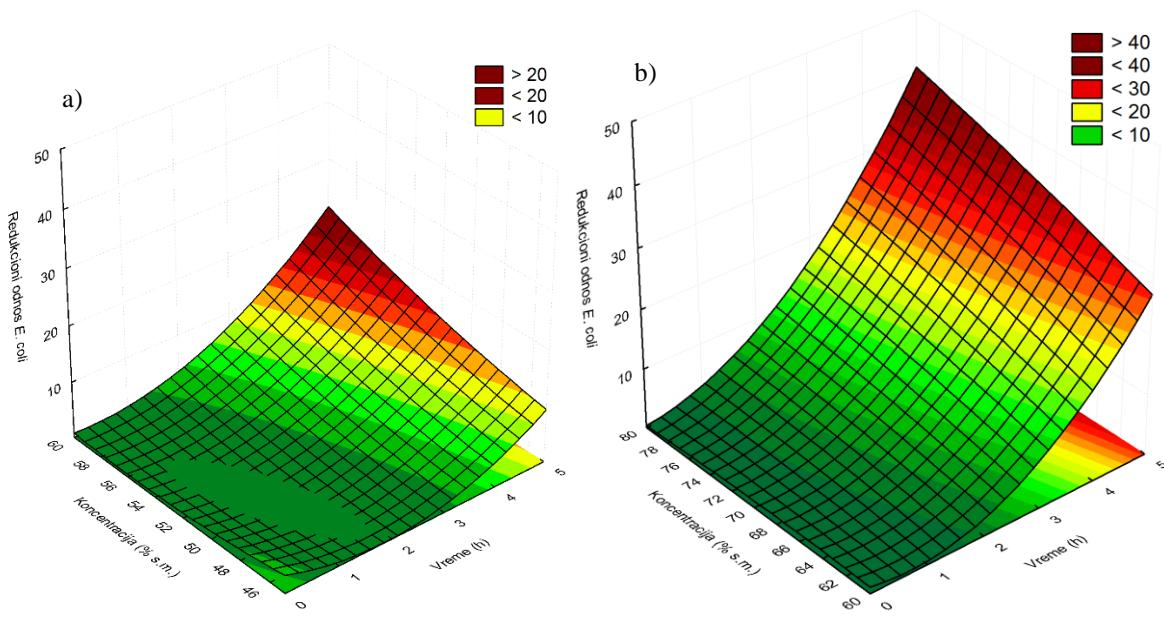
Iz rezultata u tabeli 4.13 i sa slika od 4.8 do 4.11 gde su dati grafički prikazi jednačina polinoma drugog reda koji opisuju razvijene modele redukcionih odnosa ispitivanih bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae) na mesu pilećih grudi tokom procesa osmotske dehidratacije u zavisnosti od primenjenih procesnih parametara, uočava se

da produžavanjem vremena trajanja procesa osmotske dehidratacije dolazi do statistički značajnog povećanja redukcionih odnosa svih ispitivanih bakterija pri konstantnim vrednostima koncentracija osmotskih rastvora. Kao i u slučaju mikroorganizama direktno inokulisanih u osmotskim rastvorima, nivo redukcije ispitivanih vrsta bakterija je posledica dužine trajanja izlaganju uticaju visokog osmotskog pritiska.

Povećanjem koncentracija osmotskih rastvora statistički se značajno ($p<0,05$) povećavaju vrednosti redukcionih odnosa svih ispitivanih bakterija na mesu pilećih grudi, pri istom vremenu trajanja osmotske dehidratacije, isto kao i u slučaju ispitivanja uticaja procesnih parametara osmotskih rastvora na preživljavanje bakterija, poglavlje 4.2. Usled direktne korelacije koncentracije vodenog rastvora i melase sa njihovim osmotskim pritiscima (Filipović i sar., 2015), povećanjem koncentracije osmotskih rastvora dolazi do povećanja osmotskog pritiska koji direktno povećava redukciju svih ispitivanih mikroorganizama na pilećem mesu koje se osmotski dehidrira.

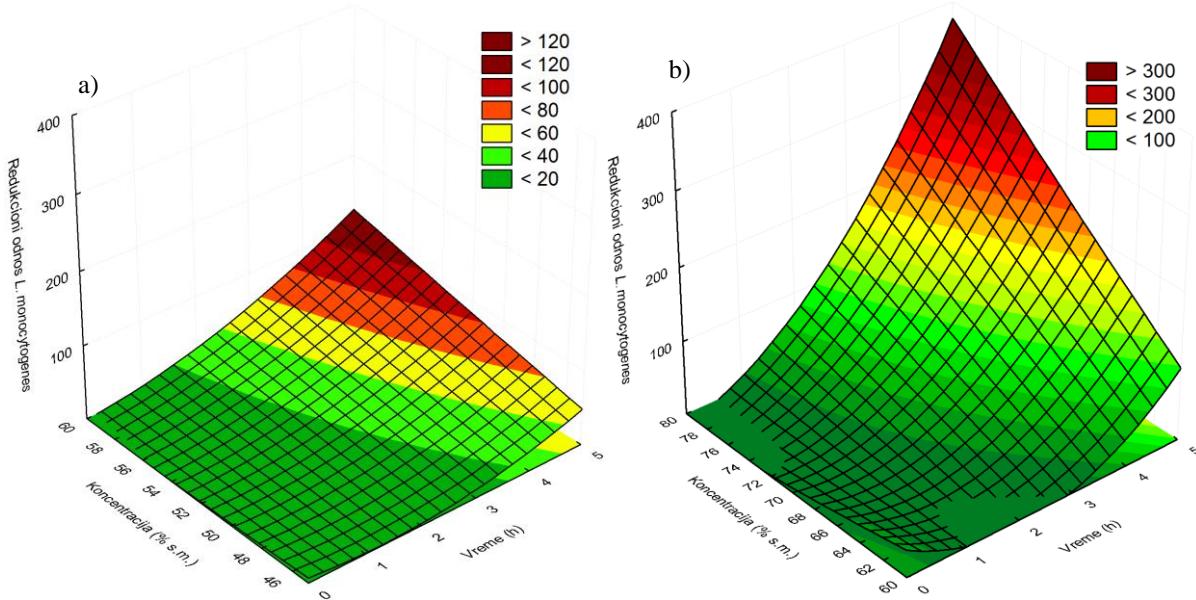
Statistički značajne ($p<0,05$) razlike su utvrđene između vrednosti redukcionih odnosa, za sve četiri bakterijske vrste na mesu pilećih grudi, u dva različita osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa), a pri ista druga dva procesna parametra procesa (vreme i koncentracija). Rezultati procesa u melasi su pokazali statistički značajno ($p<0,05$) veće redukcione odnose u poređenju sa procesom u vodenom rastvoru, slike od 4.8 do 4.11. Dobijeni rezultati veće redukcije bakterija na mesu pilećih grudi u procesu osmotske dehidratacije u melasi u poređenju sa procesom u vodenom rastvoru su u saglasnosti sa rezultatima redukcije istih bakterija direktno inokulisanih u iste osmotske rastvore, tabela P.3 a i b, poglavlje 4.2, a kao moguće objašnjenje može biti značajnija antibakterijska aktivnost antioksidativnih jedinjenja koja se nalaze u melasi (Chen i sar., 2017), na bakterije prisutne na mesu pilećih grudi koje se dehidrira.

Uporednim posmatranjem rezultata redukcionog odnosa *E. coli* i *L. monocytogenes* na mesu pilećih grudi nakon 5 h procesa pri maksimalnim koncentracijama osmotskih rastvora (60% s. m. za vodeni rastvor i 80% s. m. za melasu), u slučaju procesa osmotske dehidratacije u melasi dobijen je 1,61 put veći redukcioni odnos za *E. coli* i 3,35 puta veći redukcioni odnos za *L. monocytogenes* u poređenju sa procesom u vodenom rastvoru.



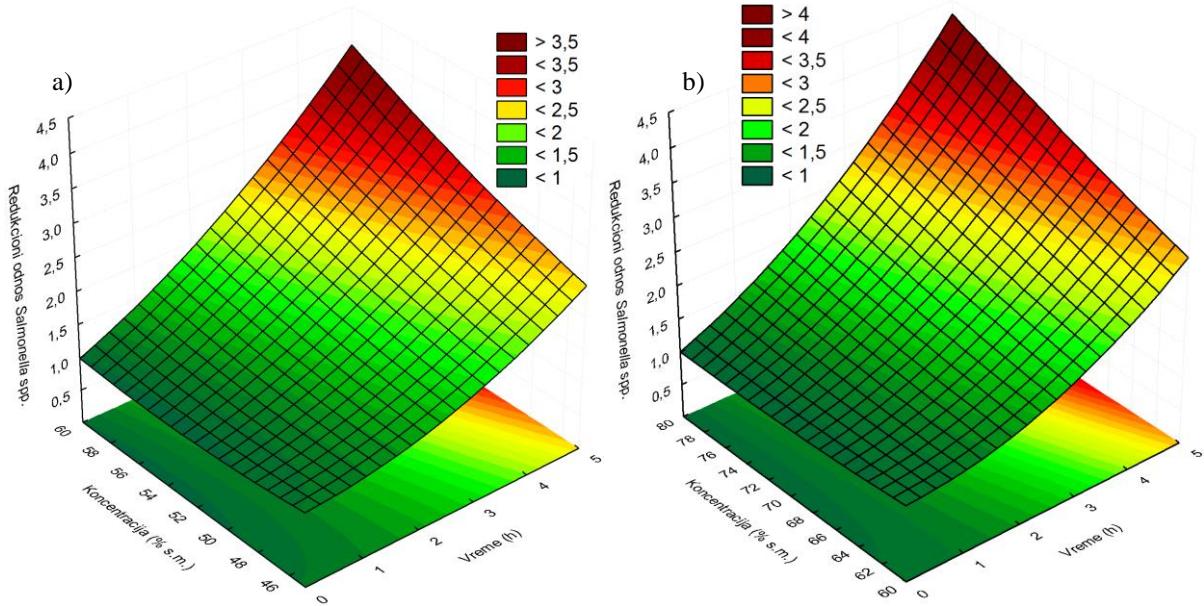
Slika 4.8 Redukcioni odnosi *E. coli* na mesu pilećih grudi u zavisnosti od vremena trajanja procesa i koncentracije:

- vodenog rastvora i
- melase.



Slika 4.9 Redukcioni odnosi *L. monocytogenes* na mesu pilećih grudi u zavisnosti od vremena trajanja procesa i koncentracije:

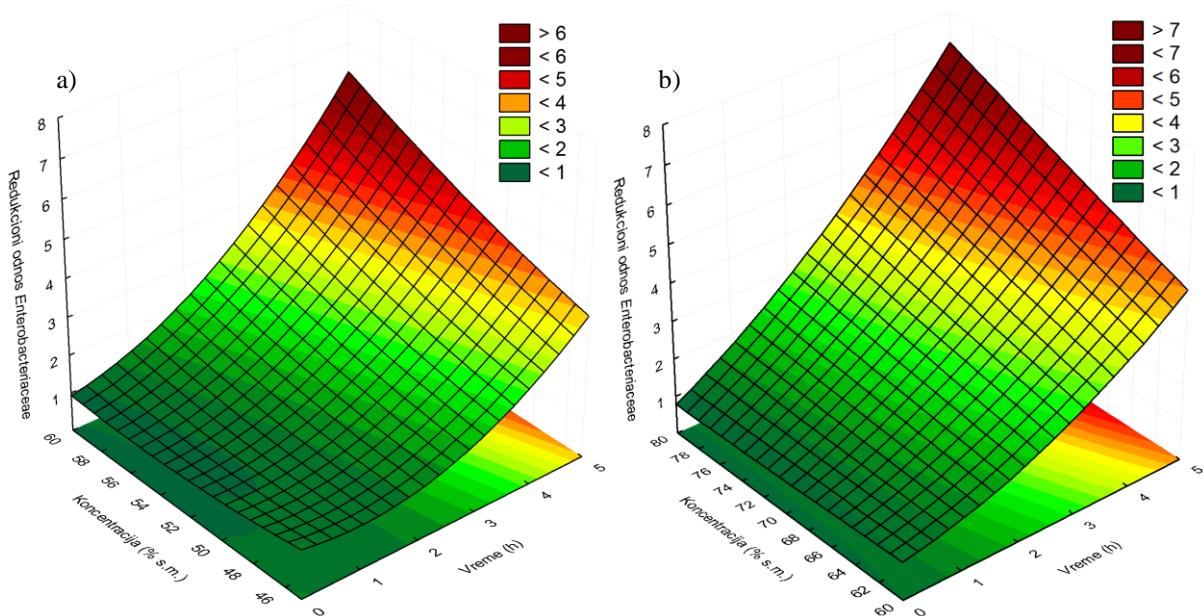
- vodenog rastvora i
- melase.



Slika 4.10 Redukcioni odnosi *Salmonella* spp. na mesu pilećih grudi u zavisnosti od vremena trajanja procesa i koncentracije:

a) vodenog rastvora i

b) melase.



Slika 4.11 Redukcioni odnosi Enterobacteriaceae na mesu pilećih grudi u zavisnosti od vremena trajanja procesa i koncentracije:

a) vodenog rastvora i

b) melase.

Isto kao i u slučaju redukcionih odnosa odabranih vrsta bakterija direktno inokulisanih u iste osmotske rastvore (vodeni rastvor i melasa), tabela P.3 a i b, poglavlje 4.2, pri istim koncentracijama dva osmotska rastvora, 60% s. m. – najniža koncentracija melase i najviša koncentracija vodenog rastvora, proces u melasi je doveo do nešto veće vrednosti redukcionih odnosa *E. coli* na mesu pilećih grudi, u poređenju sa procesom u vodenom rastvoru (27,63 u melasi naspram 25,07 u vodenom rastvoru), tabela 4.13, ponovo ukazujući da sadržaj suve materije nije jedina karakteristika osmotskih rastvora koja utiče na redukcionе odnose bakterija.

Uticaj vrste osmotskog rastvora je bio manje izražen na vrednostima redukcionih odnosa *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae na mesu pilećih grudi, ali su u svim slučajevima u melasi postignuti veći redukcioni odnosi posmatranih vrsta bakterija nego u vodenom rastvoru, pri istim ostalim procesnim parametrima (na primer: u procesima nakon 5h u osmotskim rastvorima maksimalnih koncentracija, redukcioni odnos za *Salmonella* spp. su bili 4,22 i 4,53 u vodenom rastvoru i melasi, redom, a za Enterobacteriaceae su bili 6,77 i 7,58 u vodenom rastvoru i melasi, redom), tabela 4.13.

Poređenje efikasnosti redukcije istih vrsta bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae) direktno inokulisanih u osmotskim rastvorima, tabela P.3 a i b, poglavlje 4.2, i inokulisanih na mesu pilećih grudi koje je zatim osmotski dehidrirano, tabela 4.13, je pokazalo da je redukcija svih ispitivanih vrsta bakterija bila značajno manja u eksperimentima osmotske dehidratacije inokulisanog mesa pilećih grudi.

U eksperimentima sa direktnom inokulacijom, tokom 5 h, na 32 °C, u najkoncentrovanim osmotskim rastvorima (60% s. m. za vodeni rastvor i 80% s. m. za melasu), redukcioni odnos *E. coli* je bio 1,96 puta veći u vodenom rastvoru, a 2,74 puta veći u melasi, nego redukcioni odnos *E. coli* na mesu pilećih grudi, podvrgnutom istim procesnim parametrima tokom osmotske dehidratacije (5 h, 32 °C), tabele P.3 a i b, 4.13.

U slučaju *L. monocytogenes* ovakvo poređenje pokazuje još veće razlike. U eksperimentima na 32 °C, nakon 5 h pri direktnoj inokulaciji u najkoncentrovanim rastvorima, vrednosti redukcionih odnosa *L. monocytogenes* su bile 3,35 puta veće za vodeni rastvor i 18,20 puta veće za melasu od redukcionih odnosa *L. monocytogenes* na mesu pilećih grudi pri istim ostalim parametrima. U eksperimentima direktne inokulacije u osmotskim rastvorima, došlo je do redukcije ispod granice detekcije prisutnog broja *L. monocytogenes*, što je dovelo do jako velikih vrednosti postignutih redukcionih odnosa i velikih razlika u poređenju sa redukcionim odnosima *L. monocytogenes* na mesu pilećih grudi, koja se nije u potpunosti redukovala u procesu osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi, tabele P.3 a i b, 4.13.

Razlike između vrednosti redukcionih odnosa *Salmonella* spp., direktno inokulisanih u osmotskim rastvorima i na mesu pilećih grudi, su bile najniže od svih ispitivanih vrsta bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes* i Enterobacteriaceae). Postignute su 1,69 puta veće vrednosti redukcionih odnosna *Salmonella* spp. prilikom direktne inokulacije u vodenim rastvorima u poređenju sa inokulacijom na mesu pilećih grudi i 1,90 puta veće vrednosti prilikom tretmana u melasi, tabele P.3 a i b, 4.13.

Razlike između vrednosti redukcionih odnosa Enterobacteriaceae direktno inokulisanih u osmotskim rastvorima i na mesu pilećih grudi su bile slične razlikama za *E. coli*, 2,09 puta veća redukcija je bila za direktnu inokulaciju u vodenom rastvoru i 2,45 puta veća za melasu, pri istim ostalim procesnim parametrima (5 h, 32 °C), tabele P.3 a i b, 4.13.

Trend veće redukcije svih ispitivanih vrsta bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae) direktno inokulisanih u osmotskim rastvorima od redukcije bakterija inokulisanih na mesu pilećih grudi pa podvrgnutih istim uslovima (vremena i temperature) osmotske dehidratacije, može se objasniti lokalnim razređenjem osmotskih rastvora koje potiče od vode koja migrira sa mesa pilećih grudi koje se dehidrira. Bakterije na površini mesa pilećih grudi, koje su preživele stres prvobitnog kontakta sa okolnim medijumom visokog osmotskog pritiska, nalaze se u manje ekstremnim uslovima usled lokalnog razblaženja okolnog osmotskog rastvora koje nastaje migracijom vode iz mesa pilećih grudi koje se dehidrira, ublažavajući negativan uticaj visokog osmotskog pritiska. Na osnovu rezultata uticaja koncentracije osmotskih rastvora na redukcione odnose odabranih vrsta bakterija inokulisanih direktno u osmotskim rastvorima, tabela P.3 a i b, poglavljje 4.2, vidi se da su niže koncentracije istih osmotskih rastvora statistički značajno ($p<0,05$) snižavale redukcione odnose svih ispitivanih vrsta bakterija, odnosno veći broj posmatranih bakterija je preživljavao. Na osnovu tog mehanizma, bakterije na površini mesa pilećih grudi koje se dehidrira, nalaze se u manje letalnim uslovima, nego bakterije direktno inokulisane u osmotskim rastvorima, pod istim ostalim procesnim parametrima, što za posledicu ima veću vijabilnost bakterija na mesu pilećih grudi.

4.3.1 Matematički modeli redukcionih odnosa mikroorganizama na mesu pilećih grudi

Metod odzivne površine primjenjen je sa ciljem određivanja modela redukcionih odnosa posmatranih bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae) na mesu pilećih grudi za vodenim rastvorom i melasu, kao i u slučaju analize uticaja parametara osmotskih rastvora na preživljavanje mikroorganizama, poglavlje 4.2.

U tabelama 4.14 i 4.15 prikazani su rezultati ANOVA modela odzivnih površina koji su razvijeni na osnovu eksperimentalnih rezultata za redukcione odnose četiri bakterijske vrste tokom različitog vremena procesa, u različitim koncentracijama osmotskih rastvora i u dva različita osmotska rastvora, a koji su prikazani u tabeli 4.13. Na osnovu ovih rezultata analizirani su statistički značajni ($p<0,05$) efekti procesnih parametara, kao i njihove međuzavisnosti na odzive matematičkog modela (redukcioni odnosi četiri bakterijske vrste). U metodu odzivne površine korišćen je polinom drugog reda (SOP) u obliku jednačine [3.9] za sve procesne parametre, odnosno nezavisno promenljive veličine.

Tabela 4.14 ANOVA modela redukcionih odnosa za bakterijske kontaminante na mesu pilećih grudi u vodenom rastvoru

Procesni parametri	Član	df ⁺	Zbir kvadrata			
			<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Enterobacteriaceae
Vreme	Linearni	1	373,3553 *	14686,08 *	9,53797 *	31,00583 *
	Kvadratni	1	97,9486 *	1352,05 *	0,24750 *	2,85464 *
Koncentracija	Linearni	1	60,5440 *	3122,50 *	1,25354 *	3,30563 *
	Kvadratni	1	5,4913 ns	3,62 ns	0,03609 ns	0,13595 ns
Proizvod parametara	Vreme × Koncentracija	1	72,5847 *	2479,13 *	0,89510 *	2,98218 *
Greška	Ostatak varijanse	12	47,4021 ns	447,50 ns	0,27914 ns	0,86875 ns
	Ukupan zbir kvadrata	17	622,6411	20677,66	11,71515	39,50449
r ²			0,924	0,978	0,976	0,978

⁺ Broj stepeni slobode,

* Statistički značajno na nivou $p<0,05$

ns Nije statistički značajno

ANOVA odziva (redukcionih odnosa odabranih bakterija na mesu pilećih grudi) u vodenom rastvoru, tabela 4.14, je pokazala da su na vrednosti redukcionih odnosa, statistički značajno ($p<0,05$) uticala oba procesna parametra, gde se kao uticajniji parametar pokazalo vreme procesa, a kao manje značajan parametar koncentracija osmotskog rastvora, što se vizuelno može primetiti i na graficima prikazanim na slikama 4.8 a) do 4.11 a).

Kod sva četiri matematička modela redukcionih odnosa odabranih bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae) na mesu pilećih grudi, linearni i kvadratni članovi za vreme procesa, zajedno sa linearnim članom za koncentraciju osmotskog rastvora i članom proizvoda parametara, statistički su značajno ($p<0,05$) doprineli formiranju matematičkih modela, tabela 4.14.

Ostatak varijanse nije bio statistički značajan ($p<0,05$) ni za jedan od četiri razvijena matematička modela, što ukazuje da su svi primjenjeni modeli redukcionih odnosa odabranih vrsta bakterija adekvantno opisali redukciju četiri bakteriološke vrste na mesu pilećih grudi tokom osmotske dehidratacije u vodenom rastvoru pri primjenjenim procesnim parametrima, tabela 4.14.

Vrednost r^2 je bila u interval od 0,924 do 0,978 za četiri razvijena modela, ukazujući na veoma dobro poklapanje modela SOP-a sa izmerenim eksperimentalnim vrednostima, tabela 4.14.

U tabeli 4.15 prikazana je ANOVA modela redukcionih odnosa odabranih vrsta bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae) na mesu pilećih grudi u melasi. Na osnovu ANOVA testa praćenih odziva u melasi kao osmotskom rastvoru, vidi se da su na vrednost odziva redukcionih odnosa za sve ispitivane bakterije na mesu pilećih grudi statistički značajno ($p<0,05$) uticala oba procesna parametra (vremena i koncentracije), sa istim nivoima značajnosti kao i u slučaju vodenog rastvora kao osmotskog rastvora. Na graficima na slikama od 4.8 b) do 4.11 b) se može videti da se kao uticajniji parametar pokazalo vreme procesa, a koncentracija rastvora je bila manje uticajan parametar na odzive redukcionih odnosa odabranih bakterija na mesu pilećih grudi.

Linearni i kvadratni članovi vremena, linearni član za koncentraciju, kao i član proizvoda parametara bili su statistički značajni ($p<0,05$) za sva četiri SOP matematička modela redukcionih odnosa svih ispitivanih bakterija, tabela 4.15.

Ostatak varijanse, kao i u slučaju modela redukcionih odnosa odabranih bakterija na mesu pilećih grudi u rastvoru, ni za jedan od četiri modela, nije bio statistički značajan ($p<0,05$), dok su dobijene vrednosti koeficijenta korelacije bile veoma visoke u svim slučajevima (od 0,935 do 0,995). Ovakvi rezultati ostatka varijanse i koeficijenata korelacije ukazuju da, kao i slučaju matematičkih modela za voden rastvor, primjenjeni modeli za odziv redukcionih odnosa odabranih vrsta bakterija na mesu pilećih grudi adekvatno prikazuju proces redukcije ovih bakterija tokom procesa osmotske dehidratacije u melasi pri datim procesnim parametrima, tabela 4.15.

Tabela 4.15 ANOVA modela redukcionih odnosa za bakterijske kontaminente na mesu pilećih grudi u melasi

Procesni parametri	Član	df ⁺	Zbir kvadrata			
			<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Enterobacteriaceae
Vreme	Linearni	1	2237,819 *	107036,7 *	12,64689 *	50,80571 *
	Kvadratni	1	222,825 *	15580,1 *	0,45086 *	0,92408 *
Koncentracija	Linearni	1	120,443 *	34868,9 *	1,30124 *	4,26282 *
	Kvadratni	1	0,799 ns	62,6 ns	0,01053 ns	0,00305 ns
Proizvod parametara	Vreme × Koncentracija	1	76,867 *	38183,7 *	0,94784 *	3,05770 *
Greška	Ostatak varijanse	12	14,314 ns	12360,4 ns	0,23862 ns	0,89772 ns
	Ukupan zbir kvadrata	17	2618,348	189708,9	15,02667	58,11217
r ²			0,995	0,935	0,984	0,985

⁺ Broj stepeni slobode,

* Statistički značajno na nivou p<0,05

ns Nije statistički značajno

U tabeli 4.16 prikazani su regresioni koeficijenti jednačina SOP-a za četiri matematička modela redukcionih odnosa posmatranih vrsta bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae) na mesu pilećih grudi, za oba osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa).

Tabela 4.16 Regresioni koeficijenti polinoma drugog stepena za četiri modela redukcionih odnosa za bakterijske kontaminente na mesu pilećih grudi u procesu osmotske dehidratacije

Regresioni koeficijenti	<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Enterobacteriaceae
Vodeni rastvor				
β_0	67,0009 ns	77,3026 ns	6,037549 ns	11,22810 ns
β_1	-12,1387 *	-59,8658 *	-0,933410 *	-2,08147 *
β_{11}	0,9325 *	3,4644 *	0,046873 *	0,15919 *
β_2	-2,3544 ns	-2,3295 ns	-0,185476 ns	-0,36824 ns
β_{22}	0,0208 ns	0,0169 ns	0,001689 ns	0,00328 ns
β_{12}	0,1936 *	1,1316 *	0,021503 *	0,03925 *
Melasa				
β_0	-18,0226 ns	384,115 ns	3,997054 ns	3,02025 ns
β_1	-10,9093 *	-246,425 *	-0,983026 *	-1,54727 *
β_{11}	1,4064 *	11,760 *	0,063263 *	0,09057 *
β_2	0,5871 ns	-8,163 ns	-0,078475 ns	-0,05016 ns
β_{22}	-0,0045 ns	0,040 ns	0,000513 ns	0,00028 ns
β_{12}	0,1494 *	3,331 *	0,016595 *	0,02981 *

* Statistički značajno na nivou p<0,05

ns Nije statistički značajno

U tabeli 4.16 naznačene su statističke značajnosti ($p<0,05$) pojedinačnih koeficijenata koji se mogu koristiti za formiranje kvadratnih jednačina koje opisuju matematičke modele redukcije posmatranih bakterija na mesu pilećih grudi u procesu osmotske dehidratacije. Na osnovu jednačina koje formiraju ovi koeficijenti i poznatih ulaznih veličina, odnosno procesnih parametara vremena procesa i koncentracije osmotskih rastvora, mogu se proračunati vrednosti redukcionih odnosa *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. i Enterobacteriaceae.

4.4 UTICAJ VREMENA SKLADIŠENJA NA PREŽIVLJAVANJE MIKROORGANIZAMA NA VEŠTAČKI KONTAMINIRANOM I OSMOTSKI DEHIDRIRANOM MESU PILEĆIH GRUDI

Nakon definisanja uticaja procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi na vijabilnost odabranih inokulisanih mikroorganizama, završna faza ispitivanja u okviru ove doktorske disertacije je bila praćenje nivoa preživljavanja ili daljeg odumiranja odabranih mikroorganizama (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae, UBB) veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi tokom vremena skladištenja. U cilju određivanja roka održivosti dobijenog osmotski dehidriranog poluproizvoda neophodno je bilo, u okviru analize mikrobiološkog profila uvesti i dodatne analize uzoraka na prisustvo proteolitičkih i psihrotrofnih mikroorganizma. Ovi mikroorganizmi su odabrani, jer često predstavljaju uzročnike kvarenja namirnica tokom skladištenja. Proteolitički mikroorganizmi izlučuju proteolitičke enzime koji razgrađuju proteine do slobodnih amino-kiselina, što rezultuje u kvarenju mesa, tj. dolazi do pojave bakterijske sluzi na mesu, kao i do pojave mirisa kvarenja. Psihrotrofne bakterije nastanjuju trupove neposredno nakon obrade, mogu da potiču sa perja i nogu živih ptica, procesne vode u pogonu, tankova za hlađenje u protočnoj vodi (“spin chiller”) i procesne opreme (Russell, 2010).

Analiziranje roka održivosti dobijenog osmotski dehidriranog poluproizvoda zahteva i ispitivanje promena u hemijskom sastavu poluproizvoda tokom skladištenja. Iz tog razloga, parametri hemijskog sastava su odabrani radi praćenja aktivnosti proteolitičkih enzima [sadržaj biogenih amina (histamina)] i lipolitičkih enzima (sadržaj malondialdehida i DPPH radikala) tokom vremena skladištenja.

U tabeli 4.17 prikazani su rezultati preliminarnog istraživanja održivosti veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi tokom skladištenja u vremenskim tačkama od 0 i 7 dana u cilju definisanja eksperimentalnog plana.

Tabela 4.17 Promene broja bakterija na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi nakon skladištenja na 22 °C

		Vodeni rastvor		Melasa	
Vreme skladištenja (dani)		0	7	0	7
<i>E. coli</i>	\log_{10} (cfu/g)	3,28	1,60	3,08	1,00
<i>L. monocytogenes</i>		2,73	1,85	2,43	1,70
<i>Salmonella</i> spp.		4,08	2,11	4,04	1,78
Enterobacteriaceae		4,18	2,34	4,11	1,90
UBB		4,20	2,57	4,15	2,18
Proteolitički mikroorganizmi		2,76	1,00	2,68	1,00
Psihrotrofni mikroorganizmi		2,89	2,08	2,59	1,95

Rezultati pokazuju, tabela 4.17, da je nakon 7 dana skladištenja dolazilo do opadanja broja svih inicijalno prisutnih bakterijskih ćelija, dok je u slučaju *E. coli*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae na mesu dehidriranom u oba rastvora (vodeni rastvor i melasa) redukcija bila značajnija i iznosila oko 2 log jedinice. Redukcija broja *L. monocytogenes* i psihrotrofnih bakterija je bila nešto niža (oko 1 log jedinice), a broj ovih preživelih bakterija na mesu nakon skladištenja bio je nešto veći [od 1,70 do 2,08 \log_{10} (cfu/g)]. Trend kretanja rezultata je pokazao da je neophodno sprovoditi analize češćom dinamikom tokom prvih 7 dana, a broj preživelih bakterija nakon 7 dana je ukazao da je potrebno produžiti vreme skladištenja i nakon ovog perioda. Na osnovu prikazanih preliminarnih rezultata definisan je eksperimentalni plan održivosti veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u dva osmotska rastvora, tokom skladištenja do 14 dana na temperaturi skladištenja od 22 °C tokom vremenskih perioda od: 0, 1, 2, 4, 7, 10 i 14 dana. Nakon isteka svakog od navedenih vremenskih perioda skladištenja, na dehidriranom mesu pilećih grudi sprovedena su navedena mikrobiološka i hemijska ispitivanja.

4.4.1 Mikrobiološka ispitivanja veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi tokom skladištenja

U tabeli 4.18 prikazani su rezultati mikrobioloških analiza broja posmatranih mikroorganizama (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae, UBB, proteolitčki i psihrotrofni mikroorganizmi) na veštački kontaminiranim i osmotski dehidriranim uzorcima mesa pilećih grudi, u dva osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa) koji su skladišteni tokom različitog vremena (od 0 do 14 dana) na temperaturi od 22 °C.

Rezultati ispitivanja broja svih posmatranih mikroorganizama na veštački kontaminiranim i osmotski dehidriranim, uzorcima mesa pilećih grudi, u dva osmotska rastvora, nakon procesa osmotske dehidratacije (0 dana skladištenja) pripremljenih za skladištenje, pokazuju poklapanje nivoa vrednosti sa rezultatima prikazanim u poglavljju 4.3, kao i rezultatima preliminarnog ogleda, prikazanim u tabeli 4.17.

ANOVA eksperimentalnih podataka za brojnost ispitivanih mikroorganizama na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi tokom vremena skladištenja sprovedena je na skupu podataka koji su obuhvatili vrednosti za meso dehidrirano u oba osmotska rastvora (zbirno za vodeni rastvor i melasu). Na taj način omogućeno je praćenje statističke značajnosti uticaja dva procesna parametra (vremena skladištenja i vrste rastvora) na brojnost ispitivanih mikroorganizama na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi.

Primetna je statistički značajna ($p<0,05$) razlika između vrednosti broja *E. coli* na uzorcima veštački kontaminiranog mesa pilećih grudi nakon procesa osmotske dehidratacije (0 dana skladištenja) u zavisnosti od korišćenog osmotskog rastvora (19×10^2 cfu/g za vodeni rastvor, 12×10^2 cfu/g za melasu), tabela 4.18. Niže vrednosti broja *E. coli*, iako ne statistički značajne, postignute su u svim vremenskim periodima tokom skladištenja, u uzorcima koji su osmotski dehidrirani u melasi u poređenju sa uzorcima koji su dehidrirani u vodenom rastvoru. Tokom vremena skladištenja uzoraka mesa dehidriranih u oba osmotska rastvora došlo je do statistički značajne ($p<0,05$) redukcije broja *E. coli*, u odnosu na početni broj (0 dana skladištenja). Broj ćelija *E. coli* ispod granice detekcije primjenjenog metoda (<10 cfu/g) postignut je nakon 10. dana skladištenja u slučaju uzoraka mesa dehidriranog u vodenom rastvoru, a već nakon 7. dana skladištenja u slučaju uzoraka mesa dehidriranog u melasi.

Tabela 4.18 Brojnost mikroorganizama na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi tokom vremena skladištenja

Vreme skladištenja (dani)	Broj (srednja vrednost±standardna devijacija) mikroorganizama ($\times 10^2$ cfu/g)					
	<i>E. coli</i>	<i>L. mono- cytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Enterobacteriaceae</i>	UBB	Psihrotrofni mikroorganizmi
Veštački kontaminirano meso pilećih grudi dehidrirano u vodenom rastvoru						
0	19,00±2,83 ^f	5,20±0,85 ^e	120,00±28,28 ^e	155,00±21,21 ^d	165,00±7,07 ^f	9,75±1,77 ^f
1	7,45±0,92 ^{d,e}	3,75±0,63 ^d	55,50±4,95 ^{b,c}	71,50±10,60 ^c	80,00±4,24 ^d	4,45±1,20 ^{d,e}
2	7,50±0,99 ^{c,d}	2,10±0,99 ^{b,c}	56,50±12,02 ^{b,c}	72,50±7,78 ^{b,c}	80,50±9,19 ^d	4,45±0,50 ^{c,d}
4	2,05±0,78 ^{a,b}	1,25±0,78 ^{a,b}	11,80±3,11 ^a	15,00±2,83 ^a	18,50±3,54 ^b	2,85±0,49 ^{b,c}
7	0,40±0,00 ^a	0,70±0,14 ^a	1,15±0,35 ^a	2,00±0,28 ^a	3,00±0,85 ^{a,b}	1,70±0,28 ^{a,b}
10	< 0,10±0,00 *	0,50±0,14 ^a	< 0,10±0,00	< 0,10±0,00	2,00±0,14 ^{a,b}	1,55±0,35 ^{a,b}
14	< 0,10±0,00	< 0,10±0,00	< 0,10±0,00	< 0,10±0,00	1,15±0,35 ^a	< 0,10±0,00
Veštački kontaminirano meso pilećih grudi dehidrirano u melasi						
0	11,85±3,04 ^e	2,80±0,42 ^{c,d}	109,00±15,56 ^{d,e}	130,00±14,14 ^d	145,00±7,07 ^e	7,45±0,49 ^e
1	7,35±0,77 ^{c,d}	1,45±0,49 ^{a,b}	82,00±8,49 ^{c,d}	91,00±5,66 ^c	94,50±4,95 ^d	4,25±0,77 ^{c,d}
2	4,75±0,64 ^{b,c}	1,25±0,49 ^{a,b}	40,50±4,95 ^b	49,00±5,66 ^b	60,00±5,66 ^c	2,85±0,35 ^{b,c}
4	1,00±0,14 ^{a,b}	1,05±0,35 ^{a,b}	5,95±0,92 ^a	8,00±0,85 ^a	9,55±1,48 ^{a,b}	1,50±0,42 ^{a,b}
7	< 0,10±0,00	0,50±0,00 ^a	0,60±0,14 ^a	0,75±0,21 ^a	1,50±0,42 ^{a,b}	0,55±0,21 ^a
10	< 0,10±0,00	< 0,10±0,00	< 0,10±0,00	< 0,10±0,00	1,00±0,42 ^a	< 0,10±0,00
14	< 0,10±0,00	< 0,10±0,00	< 0,10±0,00	< 0,10±0,00	0,75±0,21 ^a	< 0,10±0,00

^{a-f} Različita slova u eksponentu istih kolona tabele, po ispitivanom mikroorganizmu, za oba osmotska rastvora, ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p<0,05$ (na osnovu “post-hoc Tukey HSD”testa)

* Vrednosti ispod limita kvantifikacije, $<(0,10\pm0,00)\times10^2$, nisu obuhvaćene statističkom metodom ANOVA

Broj *L. monocytogenes* na veštački kontaminiranom mesu pilećih grudi, odmah nakon procesa osmotske dehidratacije u oba osmotska rastvora, pre skladištenja, bio je značajno niži u poređenju sa ostalim ispitivanim mikroorganizmima ($5,20 \times 10^2$ cfu/g za meso dehidirano u vodenom rastvoru, $2,80 \times 10^2$ cfu/g za meso dehidirano u melasi). Broj *L. monocytogenes* na uzorcima mesa, statistički značajno ($p < 0,05$) se razlikovao u zavisnosti od primenjenih osmotskih rastvora u vremenskim tačkama od 0 i 1 dana skladištenja, a bez statističke značajnosti u kasnijim vremenskim tačkama, gde su ponovo postignute veće redukcije u procesu sa melasom, kao osmotskim rastvorom. Sa protokom vremena skladištenja, došlo je do statistički značajnog ($p < 0,05$) smanjenja broja ovog ispitivanog mikroorganizma na uzorcima mesa dehidriranog u oba osmotska rastvora u odnosu na početni broj (0 dana skladištenja). Broj *L. monocytogenes* na uzorcima veštački kontaminiranog mesa pilećih grudi i osmotski dehidriranog u vodenom rastvoru, nakon 7 dana skladištenja bio je nizak ($0,7 \times 10^2$ cfu/g), dok je nakon 14 dana skladištenja postignuta vrednost od <10 cfu/g. U slučaju melase kao osmotskog rastvora za osmotsku dehidrataciju veštački kontaminiranog mesa pilećih grudi, nakon 7 dana skladištenja postignut je broj *L. monocytogenes* od $0,5 \times 10^2$ cfu/g, a već nakon 10 dana skladištenja broj *L. monocytogenes* na ovim uzorcima mesa se snizio na vrednost od <10 cfu/g, tabela 4.18.

Analizom prisustva *L. monocytogenes* u 10 g uzorka veštački kontaminiranog mesa pilećih grudi i osmotski dehidriranog, u oba osmotska rastvora, nakon 14 dana skladištenja, nije detektovano prisustvo ispitivanog mikroorganizma u uzorcima mesa.

Broj *Salmonella* spp. na veštački kontaminiranom mesu pilećih grudi, odmah nakon procesa osmotske dehidratacije, pre skladištenja, statistički se nije značajno ($p < 0,05$) razlikovao u zavisnosti od primenjenih osmotskih rastvora ($120,00 \times 10^2$ cfu/g za meso dehidirano u vodenom rastvoru, $110,00 \times 10^2$ cfu/g za meso dehidirano u melasi), iako je bio neznatno niži (za 8,33%) na uzorcima mesa dehidriranim u melasi, tabela 4.18.

Došlo je do statistički značajnog ($p < 0,05$) smanjenja broja *Salmonella* spp. tokom skladištenja veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u odnosu na početni broj (0 dana skladištenja), u oba osmotska rastvora, takođe kao i u prethodnim slučajevima, dok nije bilo statistički značajne ($p < 0,05$) razlike između broja *Salmonella* spp. na uzorcima mesa dehidriranim u različitim osmotskim rastvorima, u istim vremenskim intervalima skladištenja. Broj *Salmonella* spp. uvek bio veći na mesu dehidriranom u vodenom rastvoru u poređenju sa mesom dehidriranom u melasi, sem u vremenskoj tački: 1 dan skladištenja. Nakon 10 dana skladištenja, broj *Salmonella* spp. je iznosio <10 cfu/g za uzorke mesa dehidrirane u oba osmotska rastvora, tabela 4.18.

Analizom prisustva *Salmonella* spp. u 10 g uzorka veštački kontaminiranog mesa pilećih grudi i osmotski dehidriranog u oba osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa), nakon 14 dana skladištenja, nije detektovano prisustvo ispitivanog mikroorganizma u uzorcima mesa.

Broj Enterobacteriaceae na veštački kontaminiranom pilećem mesu, odmah nakon procesa osmotske dehidratacije, pre skladištenja, kao i u slučaju ukupnog broja bakterija, razlikovao u zavisnosti od primenjenih osmotskih rastvora ($155,00 \cdot 10^2$ cfu/g za meso dehidirano u vodenom rastvoru, $130,00 \cdot 10^2$ za meso dehidirano u melasi), međutim u ovom slučaju nije bilo statistički značajne razlike, tabela 4.18.

Tokom vremena skladištenja veštački kontaminiranog, osmotski dehidriranog pilećeg mesa, u oba osmotska rastvora, došlo je do statistički značajnog smanjenja broja Enterobacteriaceae. U prvim danima skladištenja (zaključno sa 7. danom skladištenja), broj Enterobacteriaceae je bio niži na mesu dehidriranom u melasi u poređenju sa mesom dehidriranom u vodenom rastvoru. Nakon 10 dana skladištenja, broj Enterobacteriaceae je iznosio <10 cfu/g za uzorke mesa dehidrirane u oba osmotska rastvora.

UBB na veštački kontaminiranom mesu pilećih grudi, odmah nakon procesa osmotske dehidratacije (0 dana skladištenja), statistički značajno ($p<0,05$) se razlikovao u zavisnosti od primenjenih osmotskih rastvora (vrednost UBB za meso dehidirano u vodenom rastvoru je iznosila $165,00 \times 10^2$ cfu/g, a za meso dehidirano u melasi je iznosila $145,00 \times 10^2$ cfu/g). Sa protokom vremena skladištenja veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi, u oba osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa), dolazilo je do statistički značajnog ($p<0,05$) smanjenja UBB u odnosu na početni broj (0 dana skladištenja). Vrednosti ukupnog broja bakterija su u svakom posmatranom danu skladištenja (izuzev vremenske tačke: 1 dan skladištenja) bile niže na mesu dehidriranom u melasi u poređenju sa mesom dehidriranom u vodenom rastvoru. Nakon 14 dana skladištenja, UBB na mesu je iznosio $1,15 \times 10^2$ cfu/g, za uzorke dehidrirane u vodenom rastvoru i $0,75 \times 10^2$ cfu/g, za uzorke dehidrirane u melasi. Do statistički značajne ($p<0,05$) redukcije UBB na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi u vodenom rastvoru, više nije dolazilo nakon 7 dana skladištenja, dok u slučaju mesa dehidriranog u melasi, već nakon 4 dana skladištenja, više nije dolazilo do statistički značajne ($p<0,05$) redukcije UBB. Nakon ovih perioda skladištenja, postignuti su niski nivoi prisutnih ukupnih bakterija, tabela 4.18.

Rezultati analize broja proteolitičkih mikroorganizama veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi, u oba osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa), su pokazali da je u svim ispitivanim uzorcima bilo manje od 10 cfu/g. Iako je dokazano prisustvo *L. monocytogenes* kao predstavnika proteolitičkih bakterija, na osnovu rezultata

analize broja proteolitičkih mikroorganizama, uočava se da nije bilo produkata njihove metaboličke aktivnosti, tokom vremena skladištenja uzorka mesa.

Broj psihrotrofnih mikroorganizama na uzorcima mesa, statistički značajno ($p<0,05$) se razlikovao u zavisnosti od primenjenih osmotskih rastvora, samo u vremenskoj tački od 0 dana skladištenja ($9,75 \times 10^2$ cfu/g za vodenim rastvorom, $7,45 \times 10^2$ cfu/g za melasu), dok u ostalim vremenskim tačkama nije bilo statistički značajne ($p<0,05$) razlike, tabela 4.18. Kao i u slučajevima prethodno analiziranih mikroorganizama, ponovo su postignuti niže vrednosti broja psihrotrofnih mikroorganizama u procesu sa melasom, kao osmotskim rastvorom. Sa protokom vremena skladištenja, došlo je do statistički značajnog ($p<0,05$) smanjenja broja psihrotrofnih mikroorganizama na uzorcima mesa dehidriranog u oba osmotska rastvora u odnosu na početni broj (0 dana skladištenja). Broj psihrotrofnih mikroorganizama na uzorcima veštački kontaminiranog mesa pilećih grudi osmotski dehidriranog u vodenom rastvoru, nakon 14 dana skladištenja je bio <10 cfu/g. Već nakon 10 dana skladištenja, broj ispitivanih psihrotrofnih mikroorganizama na uzorcima mesa osmotski dehidriranog u melasi, snizio se na vrednost od <10 cfu/g, tabela 4.18.

Statistički značajna ($p<0,05$) redukcija broja: *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae, UBB i psihrotrofnih mikroorganizama tokom vremena skladištenja uzorka mesa, verovatno je posledica dvojnog efekta:

- oštećenja ćelija bakterija, nastalog tokom procesa osmotske dehydratacije, usled izloženosti sredini (osmotskom medijumu) sa visokim vrednostima osmotskog pritiska i
- daljim negativnim efektima na preživele, oštećene ćelije bakterija tokom skladištenja, koji se ogleda u niskim postignutim a_w vrednostima dehidriranog mesa (0,835 za uzorke dehidrirane u vodenom rastvoru i 0,812 za uzorke dehidrirane u melasi, tabele P.1 i P.2). Ovako niske a_w vrednosti dodatno dovode do odumiranja prisutnog broja oštećenih ćelija mikroorganizma tokom vremena (Huang i Nip, 2001; Feiner, 2006).

4.4.2 Promena odabranih hemijskih parametara veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi tokom skladištenja

U tabeli 4.19 prikazani su rezultati hemijskih analiza odabranih parametara [sadržaj histamina, sadržaj malondialdehida i sadržaj 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) radikala] veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u dva osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa) koji su skladišteni tokom istog vremena (od 0 do 14 dana) na temperaturi od 22 °C.

Tabela 4.19 Promena odabranih hemijskih parametara veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi tokom vremena skladištenja

Vreme skladištenja (dani)	Sadržaj malondialdehida (mg/kg)	Sadržaj DPPH radikala IC ₅₀ (mg/ml)
	srednja vrednost±standardna devijacija	
Veštački kontaminirano meso pilećih grudi dehidrirano u vodenom rastvoru		
0	0,17±0,01 ^a	27,38±0,15 ^{b,c}
1	0,19±0,01 ^{a,b}	29,80±0,06 ^d
2	0,22±0,01 ^{b,c}	31,16±0,31 ^{e,f}
4	0,23±0,01 ^c	31,50±0,27 ^f
7	0,28±0,01 ^e	31,45±0,58 ^f
10	0,36±0,01 ^g	32,11±0,08 ^f
14	0,51±0,02 ⁱ	38,37±1,38 ^g
Veštački kontaminirano meso pilećih grudi dehidrirano u melasi		
0	0,21±0,02 ^{b,c}	25,57±0,01 ^a
1	0,24±0,01 ^{c,d}	26,87±0,10 ^{a,b}
2	0,26±0,01 ^d	27,34±0,02 ^{b,c}
4	0,29±0,01 ^e	28,64±0,01 ^{c,d}
7	0,33±0,01 ^f	29,22±0,10 ^d
10	0,39±0,01 ^h	29,90±0,04 ^{d,e}
14	0,60±0,01 ^j	31,60±0,48 ^f

^{a-j} Različita slova u eksponentu istih kolona tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od p<0,05 (na osnovu “post-hoc Tukey HSD”testa)

Pravilnik o opštim i posebnim uslovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa („Sl. glasnik RS“, br. 72/2010 i 62/2018), definiše maksimalno dozvoljene vrednosti sadržaja histamina za ribu i proizvode od ribe, dok za živinsko meso nisu propisane analize sadržaja histamina, te stoga nisu definisane ni maksimalne vrednosti. Za potrebe praćenja kvarenja mesa, odnosno razgradnje proteina, koja se ogleda u dekarboksilaciji amino-

kiselina, u ovom istraživanju analizirane su vrednosti sadržaja histamina u veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi, u dva osmotska rastvora, tokom skladištenja. Vrednosti ispitivanja sadržaja histamina, u svim ispitivanim uzorcima, bile su manje od 10 mg/kg, što predstavlja granicu kvantifikacije metoda. Ovakvi rezultati ispitivanja sadržaja histamina su u saglasnosti sa rezultatima analize broja proteolitičkih mikroorganizama na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi, koji se takođe nisu menjali tokom vremena skladištenja (broj je bio <10 cfu/g), sa obzirom da histamin nastaje kao produkt metabolizma proteolitičkih mikroorganizama (Šimat, 2010).

Vrednosti sadržaja malondialdehida veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi tokom skladištenja, koje su prikazane u tabeli 4.19, pokazuju da postoji statistički značajna ($p<0,05$) razlika između uzoraka dehidriranih u različitim osmotskim rastvorima. Rezultati različitih vrednosti sadržaja malondialdehida u zavisnosti od primjenjenog rastvora, mogu se objasniti činjenicama da tokom procesa osmotske dehidratacije dolazi do različite promene boje dehidriranih uzoraka u zavisnosti od primjenjenih osmotskih rastvora (Filipović i Lević, 2014), a da je metod za određivanje vrednosti sadržaja malondialdehida spektrofotometrijski (Bostoglou i sar., 1994; Mandić, 2007), na koji utiče boja uzoraka za analizu. Nakon protoka 2 dana skladištenja, došlo je do statistički značajnog ($p<0,05$) porasta vrednosti sadržaja malondialdehida uzoraka veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u oba osmotska rastvora u odnosu na početnu vrednost (0 dana skladištenja). Nakon 14 dana skladištenja vrednosti sadržaja malondialdehida uzoraka mesa dehidriranog u oba osmotska rastvora prešle su vrednosti od 0,5 mg/kg koje se smatraju pragom pojave užegnuća u mesu (Šojić i sar., 2015), dok uzorke nakon 10 dana skladištenja su još uvek karakterisale niske vrednosti sadržaja malondialdehida (0,36 mg/kg za meso dehidrirano u vodenom rastvoru i 0,39 za meso dehidrirano u melasi).

Vrednosti DPPH radikala veštački kontaminiranog mesa pilećih grudi i osmotski dehidriranog u dva osmotska rastvora (voden rastvor i melasa), tokom vremena skladištenja, izražene su kao IC_{50} vrednosti, tabela 4.19. Na osnovu prikazanih rezultata uočavaju se statistički značajno ($p<0,05$) niže IC_{50} vrednosti, odnosno više antioksidativne aktivnosti uzoraka mesa pilećih grudi dehidriranog u melasi u poređenju sa pilećim mesom osmotski dehidriranom u vodenom rastvoru, u svim vremenskim intervalima. Ovakvi rezultati su u saglasnosti sa ostalim literaturnim podacima (Nićetin i sar., 2017; Knežević i sar., 2019), gde je objašnjeno da u procesu u kome se koristi melasa kao osmotski rastvor, dolazi do porasta antioksidative aktivnosti osmotski dehidrirane sirovine. Tokom procesa osmotske dehidratacije, melasa se sekundarnim tokom prenosa mase inkorporira u suvu materiju sirovine

koja se dehidrira (Filipović i Lević, 2014), a sa obzirom da melasa sadrži brojna antioksidativna jedinjenja (Valli i sar., 2012; Chen i sar., 2017), time se povećava i antioksidativna aktivnost sirovine koja se dehidrira.

Sa protokom vremena skladištenja statistički značajno ($p<0,05$) se povećavala vrednost DPPH radikala IC_{50} , odnosno smanjivala se antioksidativna aktivnost veštački kontaminiranog mesa pilećih grudi i osmotski dehidriranog u oba osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa), u poređenju sa početkom procesa (0 dana skladištenja). Uočljiv je statistički značajan ($p<0,05$) porast vrednosti DPPH radikala IC_{50} , odnosno smanjenje antioksidativne aktivnosti nakon 14 dana skladištenja veštački kontaminiranih uzoraka mesa pilećih grudi i osmotski dehidriranih u oba osmotska rastvora, tabela 4.19. Ovakvi rezultati su u saglastnosti sa rezultatima za sadržaj malondialdehida, koji ukazuju na oksidaciju lipida i stvaranje slobodnih radikala koji snižavaju antioksidativnu aktivnost i smanjuju nutritivne i senzorske kvalitete hrane tokom skladištenja (Yeo i sar., 2012).

4.4.3 Matematički modeli mikrobioloških i hemijskih odziva veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi tokom skladištenja

U tabelama 4.20 i 4.21 prikazani su razvijeni regresioni koeficijenti i parametri kvaliteta fitovanja matematičkih modela zavisnosti mikrobioloških i hemijskih odziva veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u dva osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa), od vremena skladištenja, u formi polinoma trećeg stepena [3.11].

Na osnovu regresionih koeficijenata ($a_0 - a_3$) polinoma trećeg stepena [3.11] prikazanih u tabeli 4.20, mogu se formirati matematički modeli zavisnosti mikrobioloških i hemijskih odziva (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae, UBB, psihrotrofni mikroorganizmi, sadržaj malondialdehida i DPPH radikala) od vremena skladištenja uzoraka veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u vodenom rastvoru. Matematički modeli za odziv proteolitičkih mikroorganizama i sadržaja histamina nisu razvijeni, sa obzirom da dobijeni rezultati ispitivanja to nisu omogućili (bili su manji od 10 cfu/g i 10 mg/kg, redom). U tabeli 4.20 su prikazani i parametri kvaliteta fitovanja matematičkih modela zavisnosti mikrobioloških i hemijskih odziva od vremena skladištenja mesa dehidriranog u vodenom rastvoru (r^2 , χ^2 , MBE, RMSE, MPE). Sve razvijene matematičke modele mikrobioloških i hemijskih odziva od vremena skladištenja mesa karakterišu visoke

vrednosti r^2 i niske vrednosti paramterara χ^2 , MBE, RMSE i MPE, što ukazuje na dobro poklapanje proračunatih vrednosti u razvijenim matematičkim modelima sa izmerenim eksperimentalnim podacima.

Regresioni koeficijenti polinoma trećeg stepena [3.11] prikazani u tabeli 4.21, mogu se koristiti za formiranje matematičkih modela zavisnosti mikrobioloških i hemijskih odziva (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae, UBB, psihrotrofni mikroorganizmi, sadržaj malondialdehida i sadržaj DPPH radikala) od vremena skladištenja uzoraka veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u melasi. Kao i u slučaju mesa pilećih grudi dehidriranog u vodenom rastvoru, matematički modeli za odziv proteolitičkih mikroorganizama na mesu pilećih grudi dehidriranom u melasi i sadržaj histamina nisu razvijeni, sa obzirom da su rezultati ispitivanja svih uzoraka bili isti (<10 cfu/g, odnosno <10 mg/kg), odnosno da nije bilo detektibilne promene tokom vremena skladištenja.

U tabeli 4.21 su prikazani i parametri kvaliteta fitovanja matematičkih modela zavisnosti mikrobioloških i hemijskih odziva od vremena skladištenja mesa dehidriranog u melasi, na osnovu kojih se vidi da su sve razvijene matematičke modele karakterisale visoke vrednosti r^2 (preko 0,900) i niske vrednosti paramterara χ^2 , MBE, RMSE i MPE, ponovo ukazujući na dobro poklapanje proračunatih vrednosti sa izmerenim eksperimentalnim podacima.

Na osnovu matematičkih modela za sadržaj malondialdehida za veštački kontaminirano i osmotski dehidrirano meso pilećih grudi u vodenom rastvoru i melasi, tabele 4.20 i 4.21, proračunata su vremena skladištenja, pri zadatoj vrednosti sadržaja malondialdehida od 0,5 mg/kg [prag pojave užegnuća u mesu (Šojić i sar., 2015)], koja su pokazala da je vreme skladištenja veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u vodenom rastvoru i melasi do pojave užegnuća: 13,75 i 12,48 dana, redom.

Tabela 4.20 Matematički modeli zavisnosti mikrobioloških i hemijskih odziva veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi u vodenom rastvoru od vremena skladištenja

		Mikrobiološki odzivi						Hemijski odzivi	
		<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Enterobacteriaceae	UBB	Psihrotrofni mikroorganizmi	Sadržaj malondialdehida	DPPH radikala IC ₅₀
Regresioni koeficijenti	a ₀	1689,56 *	511,30 *	11074,18 *	14292,19 *	15348,25 *	867,56 *	0,176877 *	27,68702 *
	a ₁	-655,10 *	-166,61 *	-4040,33 *	-5230,59 *	-5457,27 *	-282,62 *	0,016625 *	2,20529 *
	a ₂	78,46 ns	19,49 *	459,95 ns	597,48 ns	615,22 ns	35,84 ns	-0,000971 ns	-0,36781 *
	a ₃	-2,882 ns	-0,73 *	-16,30 ns	-21,24 ns	-21,69 ns	-1,43 ns	0,000107 ns	0,01893 *
Parametri kvaliteta fitovanja modela	r ²	0,929	0,987	0,953	0,953	0,958	0,920	0,998	0,993
	χ ²	3,39×10 ⁴	4,58×10 ²	9,58×10 ⁵	1,60×10 ⁶	1,61×10 ⁶	8,02×10 ³	2,77×10 ⁵	8,06×10 ⁻²
	MBE	2,83×10 ⁻⁷	3,67×10 ⁻⁸	4,19×10 ⁻⁷	3,70×10 ⁻⁷	1,00×10 ⁻⁶	2,30×10 ⁻⁷	7,98×10 ⁻¹⁵	1,01×10 ⁻⁹
	RMSE	7,70×10 ⁴	1,04×10 ³	2,17×10 ⁶	3,64×10 ⁶	3,65×10 ⁶	1,82×10 ⁴	6,28×10 ⁻⁵	1,83×10 ⁻¹
	MPE	206,86	19,69	678,48	903,48	70,98	29,35	1,57	0,79

* Statistički značajno pri nivou značajnosti od p<0,05

ns Nije statistički značajno

r² - koeficijent korelacije

χ² - Redukovani "chi" na kvadrat

MBE - srednja greška pristrasnosti ("Mean Bias Error")

RMSE – koren srednje kvadratne greške ("Root Mean Square Error")

MPE - srednja procentna greška ("Mean Percentage Error")

Tabela 4.21 Matematički modeli zavisnosti odziva ispitivanih mikroorganizama na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi u melasi od vremena skladištenja

		Mikrobiološki odzivi						Hemijski odzivi	
		<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i> spp.	Enterobacteriaceae	UBB	Psihrotrofni mikroorganizmi	Sadržaj malondialdehida	DPPH radikala IC ₅₀
Regresioni koeficijenti	a ₀	1156,69 *	245,83 *	11173,35 *	13075,22 *	14366,29 *	693,02 *	0,211984 *	25,65372 *
	a ₁	-433,52 *	-63,99 ns	-4235,51 *	-4968,28 *	-5369,65 *	-236,07*	0,029015 *	1,14428 *
	a ₂	50,10*	6,42 ns	488,90 *	575,52 *	618,11 *	26,69 *	-0,003522 *	-0,12586 *
	a ₃	-1,79 *	-0,22 ns	-17,40 *	-20,55*	-21,99 *	-0,95 ns	0,000244 *	0,00532 *
Parametri kvaliteta fitovanja modela	r ²	0,996	0,916	0,988	0,994	0,996	0,975	1,000	0,997
	χ ²	9,29×10 ²	7,54×10 ²	2,38×10 ⁵	1,62×10 ⁵	1,23×10 ⁵	1,85×10 ³	2,57×10 ⁻⁶	1,43×10 ⁻²
	MBE	-4,88×10 ⁻⁸	-3,04×10 ⁻⁸	-1,57×10 ⁻⁷	1,22×10 ⁻⁶	7,73×10 ⁻⁷	4,49×10 ⁻⁸	9,25×10 ⁻¹³	2,41×10 ⁻¹⁰
	RMSE	2,11×10 ³	1,71×10 ³	5,41×10 ⁵	3,67×10 ⁵	2,78×10 ⁵	4,20×10 ³	5,84×10 ⁻⁶	3,25×10 ⁻²
	MPE	127,26	47,65	642,19	780,01	135,37	82,29	0,45	0,35

* Statistički značajno pri nivou značajnosti od p<0,05

ns Nije statistički značajno

r² - koeficijent korelacije

χ² - Redukovani "chi" na kvadrat

MBE - srednja greška pristrasnosti ("Mean Bias Error")

RMSE – koren srednje kvadratne greške ("Root Mean Square Error")

MPE - srednja procentna greška ("Mean Percentage Error")

5. ZAKLJUČCI

5.1 Na osnovu rezultata ispitivanja uticaja vrednosti procesnih parametara temperature i vremena procesa, kao i koncentracije i prirode osmotskih rastvora na efikasnost procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi, mogu se izvesti sledeći zaključci:

- U oba osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa) povećanje vrednosti procesnih parametara temperature, vremena trajanja procesa i koncentracije osmotskih rastvora dovodi do intenziviranja prenosa mase između materijala koji se dehidrira i osmotskih rastvora odnosno, porasta vrednosti odziva procesa osmotske dehidratacije, i do smanjenja a_w vrednosti dehidriranog mesa, što je uslovilo povećanje efikasnosti procesa osmotske dehidratacije,
- Maksimalne vrednosti odziva procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi postignute su u procesima osmotske dehidratacije pri temperaturi od 44 °C, tokom 5 časova procesa, u melasi koncentracije 80% s. m.,
- Na kraju petočasovnog tretmana, a_w vrednosti osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi nalazile su se u intervalu od 0,800 do 0,885.

5.2 Na osnovu rezultata ispitivanja uticaja vrednosti procesnih parametara temperature i vremena procesa i koncentracije osmotskih rastvora na preživljavanje odabralih vrsta bakterija mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Izlaganjem odabralih bakterija (*E. coli*, *L. monocytogenes* i *Salmonella* spp.) osmotskim rastvorima, koji predstavljaju sredinu sa visokim osmotskim pritiskom, dolazi do momentalne, statistički značajne ($p<0,05$), njihove redukcije,
- Maksimalne vrednosti redukcionih odnosa za sve testirane mikroorganizme (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae i UBB) su postignute nakon 5 časova procesa u oba osmotska rastvora najvećih koncentracija, na temperaturama procesa od 32 ili 44 °C,
- Povećanje vrednosti ispitivanih parametara: temperature, vremena procesa i koncentracije oba osmotska rastvora dovelo je do povećanja redukcije prisutnog broja svih odabralih bakterija, pri čemu je vreme procesa bilo najuticajniji procesni parametar na redukciju broja ćelija,

- Bolji nivoi redukcije svih ispitivanih bakterija postignuti su u melasi, u poređenju sa vodenim rastvorom, pri uporedivim, ostalim procesnim parametrima.

5.3 Na osnovu rezultata analize uticaja procesa osmotske dehidratacije na preživljavanje odabralih mikroorganizama na mesu pilećih grudi mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Proces osmotske dehidratacije doveo je do statistički značajne ($p<0,05$) redukcije broja bakterija na mesu pilećih grudi u oba osmotska rastovora, a najveći postignut nivo redukcije je bio za *L. monocytogenes*,
- Povećanje vrednosti vremena procesa i koncentracije osmotskih rastvora, dovelo je do povećanja redukcije broja svih inokulisanih bakterija na mesu pilećih grudi, gde se vreme procesa pokazalo kao uticajniji procesni parametar od koncentracije osmotskih rastvora,
- Maksimalne vrednosti redukcionih odnosa za sve testirane bakterija na mesu pilećih grudi su postignute nakon 5 časova procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi u oba osmotska rastvora najvećih koncentracija,
- Korišćenjem melase u procesu osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi, dobijeni su bolji rezultati redukcije ispitivanih bakterija, u poređenju sa konvencionalno korišćenim vodenim rasvorom, pri istim procesnim parametrima vremena i koncentracije,
- Ostvareni nivoi redukcije odabralih vrsta bakterija na mesu pilećih grudi tokom procesa osmotske dehidratacije su niži u poređenju sa rezultatima redukcionih odnosa istih bakterija direkno inokulisanih u istim osmotskim rastvorima, usled različitih mikro uslova osmotskih rastvora do čije promene je došlo kao posledica dehidratacije mesa pilećih grudi.

5.4 Na osnovu rezultata uticaja vremena skladištenja na preživljavanje mikroorganizama na veštački kontaminiranom i osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi mogu se izvesti sledeći zaključci:

- Uzorke mesa pilećih grudi dehidriranog u melasi karakterisale su niže vrednosti broja svih ispitivanih mikroorganizama (*E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., Enterobacteriaceae, UBB i pshirotrofni mikroorganizmi), u svim vremenskim tačkama (0, 1, 2, 4, 7, 10 i 14 dana) tokom skladištenja, u poređenju sa pilećim mesom dehidriranim u vodenom rastvoru,
- Sa protokom vremena skladištenja dehidriranog mesa pilećih grudi, u oba osmotska rastvora, dolazilo je do smanjenja broja svih ispitivanih mikroorganizama. Dobijene su vrednosti broja ispitivanih mikroorganizama za Enterobacteriaceae, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *E. coli*, proteolitičke i pshirotrofne mikroorganizme, od <10 cfu/g nakon 14, a u nekim slučajevima već i nakon 7 dana skladištenja. Najveća redukcija broja ispitivanih mikroorganizama na uzorcima mesa odvijala se u prva 4 dana skladištenja,
- U poređenju sa ostalim ispitivanim mikroorganizmima, za *L. monocytogenes* su najnepogodniji uslovi za preživljavanje na osmotski dehidriranom mesu pilećih grudi,
- Proteolitički mikroorganizami nisu bili prisutni u dehidriranom mesu pilećih grudi, niti je došlo do njihovog rasta, kao i ispoljavanja ove fiziološke osobine tokom vremena skladištenja uzorka mesa dehidriranih u oba osmotska rastvora, dok sadržaj histamina pokazuje da, tokom vremena skladištenja, nije dolazilo do degradacije proteina dehidriranog mesa pilećih grudi, u oba osmotska rastvora,
- Meso pilećih grudi, osmotski dehidrirano u oba osmotska rastvora nakon 10 dana skladištenja nije bilo užeglo, a vrednosti sadržaja malondialdehida su ukazale na pojavu užegnuća nakon 14 dana skladištenja. Na osnovu razvijenih matematičkih modela, proračunate vrednosti vremena skladištenja do pojave užegnuća su: 13,75 i 12,48 dana, za meso dehidrirano u vodenom rastvoru i melasi, redom.
- Meso pilećih grudi, osmotski dehidrirano u melasi karakterisano je sa većim antioksidativnim aktivnostima, praćenim DPPH metodom, a statistički značajan ($p<0,05$) pad antioksidativne aktivnosti, koji odgovara pojavi užegnuća, javio se nakon 14 dana skladištenja, kod mesa dehidriranog u oba osmotska rastvora (vodeni rastvor i melasa).

5.5 Metodom odzivne površine razvijene su jednačine polinoma drugog reda koje su definisale statistički značajne ($p<0,05$) modele za:

- Četiri odziva procesa osmotske dehidratacije,
- Redukcione odnose za sve ispitivane mikroorganizame u oba osmotska rastvora,
- Ispitivane bakterijske vrste na mesu pilećih grudi u oba osmotska rastvora.

Pored toga, razvijeni su matematički modeli zavisnosti mikrobioloških i hemijskih odziva veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog mesa pilećih grudi, u oba osmotska rastvora, od vremena skladištenja.

Svi razvijeni matematički modeli pokazuju dobro poklapanje proračunatih vrednosti sa izmerenim eksperimentalnim podacima i omogućavaju dobro predviđanje vrednosti odziva od primenjenih procesnih parametara.

5.6 Na osnovu svih ispitanih uticaja variranih parametara procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi sa mikrobiološkog i tehnološkog aspekta, kao optimalni parametri mogu da se definišu: trajanje procesa od 5 časova, temperatura procesa od 32°C u melasi, kao osmotskom rastvoru, maksimalne koncentracije od 80% s. m. Postignuti nivoi redukcije svih ispitivanih mikroorganizama u osmotskim rastvorima, kao i niski brojevi mikroorganizama nakon procesa osmotske dehidratacije inokulisanog mesa pilećih grudi ukazuju na dobru osnovu za proizvodnju zdravstveno bezbednih poluproizvoda i finalnih proizvoda od mesa pilećih grudi. Analiza održivosti je pokazala da osmotski dehidrirano meso pilećih grudi, kao poluproizvod, nije podobno za metaboličku aktivnost, preživljavanje ispitivanih mikroorganizama i da je mikrobiološki, kao i po ispitanim hemijskim parametrima, stabilno tokom skladištenja na temperaturi od 22°C u trajanju od najmanje 10 dana.

6. LITERATURA

1. Abd El-Malek A. M., Hassan Ali S. F., Hassanein R., Abdelazeem M., Mohamed M. A., Elsayh K. I. (2010): Occurrence of *Listeria* species in meat, chicken products and human stools in Assiut city, Egypt with PCR use for rapid identification of *Listeria monocytogenes*. *Vet. World*, **3**, 353-359.
2. Adzitey F., Teye G. A., Kutah W. N., Adday S. (2011): Microbial Quality of Beef Sold on Selected Markets in the Tamale Metropolis in the Northern Region of Ghana. *Livestock Res. Rural Dev.*, **23**, #5.
3. Ansorena D., Astiasarán I. (2004): Effect of storage and packaging on fatty acid composition and oxidation in dry fermented sausages made with added olive oil and antioxidants. *Meat Sci.*, **67**, 237-244.
4. Arnaut-Rollier I. L., Vauterin P., de Vos D. L., Massart L. A., Devriese L., de Zutter J., van Hoof A. (1999): Numerical taxonomic study of the *Pseudomonas* flora isolated from poultry meat. *J. Appl. Microbiol.*, **87**, 15-28.
5. Arsenović M., Pezo L., Stanković S., Radojević Z. (2015): Factor space differentiation of brick clays according to mineral content :Prediction of final brick product quality. *Appl. Clay Sci.*, **115**, 108–114.
6. Barak A. J., Beckenhauer H. C., Maillard M. E., Kharbanda K. K., Tuma D. J. (2003): Betain lowers elevated S-adenosylhomocysteine levels in hepatocytes from ethanol-fed rats. *J. Nutr.*, **133**, 2845-2848.
7. Barnes H. J., Gross W. B. (1997): Colibacillosis, in: Diseases of Poultry, 10. ed., Eds.: Calnek B. W., Barnes H. J., Beard C. W., McDougald L. R., Saif Y. M., Iowa State University Press, Ames, 751-805.
8. Beney L., Marechal P. A., Gervais P. (2001): Coupling effects of osmotic pressure and temperature on the viability of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **56**, 513-516.
9. Beresford M. R., Anrew P. W., Shama G. (2001): *Listeria monocytogenes* adheres to many materials found in food processing environments. *J. Appl. Microbiol.*, **90**, 1000-1005.
10. Bezerra M. A., Santelli R. E., Oliveira E. P., Villar L. S., Escaleira L. A. (2008): Response Surface Methodology (RSM) as a Tool for Optimization in Analytical Chemistry. *Talanta*, **76**, 965-977.

11. Borrelli R. C., Visconti A., Mennella C., Anese M., Fogliano V. (2002): Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 6527-6533.
12. Botstoglou N. A., Fletouris D. J., Papageorgiou G. E., Vassilopoulos V. N., Mantis A. J., Trakatellis A. G. (1994): Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measur lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1931-1937.
13. Brereton R. G. (2003): Applied chemometrics for scientists. John Wiley & Sons Ltd., London, 154-159.
14. Bryan F. L., Doyle M. P. (1995): Health risks and consequences of *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* in raw poultry. *J. Food Prot.*, **58**, 326-344.
15. Bulushi I., Poole S., Deeth H. C., Dykes G. A. (2009): Amines in Fish: Roles in Intoxication, Spoilage, and Nitrosamine Formation – A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **49**, 369-377.
16. Carrasco E., Morales-Rueda A., García-Gimeno R. M. (2012): Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. *Food Res. Int.*, **45**, 545-556.
17. Carvalho R., Shimokomaki M., Estévez M. (2017): Poultry Meat Color and Oxidation, in: *Poultry Quality Evaluation*, Eds.: Petracchi M., Berri C., Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, 133-157.
18. Cazier J. B., Gekas V. (2001): Water activity and its prediction: a review. *Int. J. Food Prop.*, **33**, 35-43.
19. Chaitiemwong N., Hazeleger W. C., Beumer R. R., Zwietering M. H. (2014): Quantification of transfer of *Listeria monocytogenes* between cooked ham and slicing machine surface. *Food Control*, **44**, 177-184.
20. Chen M., Zhao Z., Meng H., Yu S. (2017): The antibiotic activity and mechanisms of sugar beet (*Beta vulgaris*) molasses polyphenols against selected food-borne pathogens. *LWT - Food Sci. Technol.*, **82**, 354-360.
21. Chen X. D. (2008): Food drying fundamentals, in: *Drying Technologies in Food Processing*, Eds.: Chen X. D., Mujumdar A. S., Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, 1-8.
22. Cohen N., Ennaji H., Bouchrif B., Hassar M., Karib H. (2007): Comparative Study of Microbiological Quality of Raw Poultry Meat at Various Seasons and Different Slaughter Process in Casablanca Morocco. *J. Appl. Poult Res.*, **16**, 502-508.

23. Collignan A., Bohuon P., Deumier F., Poligne, I. (2001): Osmotic treatment of fish and meat products. *J. Food Eng.*, **49**, 153-162.
24. Commission Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union L 338, 1-26.
25. Crump J. A., Wain J. (2017): *Salmonella*, in: International Encyclopedia of Public Health, 2nd ed., Eds.: Quah S. R., Academic Press, Elsevier Inc, Amsterdam, 425-433.
26. Csonka L. N. (1989): Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Microbiol. Rev.*, **53**, 121-147.
27. Ćurčić B., Pezo L., Filipović V., Nićetin M., Knežević V. (2015): Osmotic Treatment of Fish in Two Different Solutions-Artificial Neural Network Model. *J. Food Process Pres.*, **39**, 671-680.
28. Dadgar S. (2010): Effect of cold stress during transportation on post-mortem metabolism and chicken meat quality. Doctoral Theses, University of Saskatchewan, Canada.
29. Dalgaard P., Emborg J. (2009): Histamine fish poisoning – new information to control common seafood safety issue, in: Foodborne pathogens – Hazards, risk analysis and control, 2nd ed., Eds.: Blackburn, C.W., McClure P., Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, 1140-1160.
30. Dalla Rosa M., Giroux, F. (2001): Osmotic Treatments (OT) and Problems Related to the Solution Management. *J. Food Eng.*, **49**, 223-236.
31. Davis M., Singh M., Conner D. (2010): Poultry-borne pathogens - Plant considerations, in: Poultry meat processing, 2nd ed., Eds.: Owens C., Alvarado C., Sams A., CRC PressTaylor & Francis Group, Boca Raton, 137-158.
32. Donlan R. M. (2002): Biofilms, Microbial life on surfaces. *Emerg. Infect. Dis.*, **8**, 881-890.
33. Duflos G., Dervin C., Malle P., Bouquelet S. (1999): Relevance of Matrix Effect in Determination of Biogenic Amines in Plaice (*Pleuronectes platessa*) and Whiting (*Merlangus merlangus*). *J. AOAC Int.*, **82**, 1097-1101.
34. Duraković S. (1996): Primijenjena mikrobiologija. Durieux, Zagreb, Hrvatska, 25-28.
35. Đaković Lj. (2006): Koloidna hemija. Zavod za udžbenike, Beograd, Srbija, 209-215.
36. Ercolini D., Russo F., Nasi A., Ferranti P., Villani F. (2009): Mesophilic and Psychrotrophic Bacteria from Meat and Their Spoilage Potential In Vitro and in Beef. *Appl Environ Microbiol.*, **75**, 1990-2001.

37. European Commission (2019): The Rapid Alert System for Food and Feed, 2018 Annual Report, 1-53.
38. European Food Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (2011): The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2009. EFSA Journal 2011, **9**, 140-157.
39. European Food Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (2019): The European Union One Health 2018 Zoonoses Report EFSA Journal 2019, **17**, 42-276.
40. Feiner G. (2006): Meat products handbook: Practical science and technology, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, 629-648.
41. Filipović V. (2013): Uticaj procesa osmotske dehidratacije na prenos mase i kvalitet mesa svinja. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, Srbija.
42. Filipović V., Lević Lj. (2014): Kinetika procesa osmotske dehidratacije i uticaj na kvalitet svinjskog mesa. Monografija, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, Srbija, 34-47, 100-110, 118-119.
43. Filipović V., Ćurčić B., Nićetin M., Plavšić D., Koprivica G., Mišljenović N. (2012): Mass transfer and microbiological profile of pork meat dehydrated in two different osmotic solutions. Hem. Ind., **66**, 743-748.
44. Filipović V., Lončar B., Nićetin M., Knežević V., Filipović I., Pezo L. (2014): Modeling Counter-Current Osmotic Dehydration Process of Pork Meat in Molasses. J. Food Process Eng., **37**, 533-542.
45. Filipović V., Lončar B., Nićetin M., Knežević V., Lević L. (2015): Possibility of Pork Meat Osmotic Dehydration Process Control via Osmotic Solution Osmolality Measurement. J. Process. Energy Agric., **19**, 27-30.
46. Fito P., Chiralt A. (2000): Vacuum impregnation of plant tissues, in: Design of Minimal Processing Technologies for Fruits and Vegetables, Eds.: Alzamora S. M., Tapia M.S., Lopez-Malo A., Aspen Publishers, Gaithersburg, 189-204.
47. Forward K. R., Matheson K. M., Hiltz M., Musgrave H., Poppe C. (2004): Recovery of cephalosporinresistant *Escherichia coli* and *Salmonella* from pork, beef and chicken marketed in Nova Scotia. Can. J. Infect. Dis. Med., **15**, 226-230.

48. Ganesan B., Rajesh R., Anandan R., Dhandapani N. (2007): Biochemical studies on the protective effect of betaine on mitochondrial function in experimentally induced myocardial infarction in rats. *J. Health Sci.*, **53**, 671-681.
49. Giri D. D., Kumar A., Shukla P. N. (2013): Salt stress tolerance of methylotrophic bacteria *Methylophilus* sp. and *Methylobacterium* sp. isolated from coal mine spoils. *Pol. J. Microbiol.*, **62**, 273-280.
50. Griffin P. M., Tauxe R. V. (1991): The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiol. Rev.*, **13**, 60-98.
51. Guat G. S., Leili A. H., Hao K. C., Ying L. Y., Ling L. Y., San C. W., Soopna P., Shahril N. M., Yew Huat T. J., Yaya R., Nishibuchi M., Nakaguchi Y., Son R. (2014): Transmission of *Listeria monocytogenes* from raw chicken meat to cooked chicken meat through cutting boards. *Food Control*, **37**, 51-55.
52. Guimarães C. M., Gião M. S., Martinez S. S., Pintado A. I., Bento L. S., Malcata F. X. (2007): Antioxidant activity of sugar molasses, including protective effect against DNA oxidative damage. *J. Food Sci.*, **72**, 39-43.
53. Gurfinkel D. M., Rao, A. V. (2003): Soyasaponins: The relationship between chemical structure and colon anticarcinogenic activity. *Nutr. Cancer*, **47**, 24-33.
54. Halasz A., Barath A., Simons -Sarkadi L., Holzapfel W. (1994): Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends. Food Sci. Tech.*, **5**, 42-48.
55. Hinton A. Jr., Cason J. A., Ingram K. D. (2004): Tracking spoilage bacteria in commercial poultry processing and refrigerated storage of poultry carcasses. *Int. J. Food Microbiol.*, **91**, 155-165.
56. Hoffman A., Gall K., Norton D., Wiedmann M. (2003): *Listeria monocytogenes* Contamination Patterns for the Smoked Fish Processing Environment and for Raw Fish. *J. Food Prot.*, **66**, 52-60.
57. Huang T., Nip W. (2001): Intermediate-Moisture Meat and Dehydrated Meat, in: *Meat Science and Application*, Eds.: Hui Y. H., Hui Y. H., Nip W. K., Rogers R., CRC PressTaylor & Francis Group, Boca Raton, 404-442.
58. Jevtić-Mučibabić R. (2005): Standardizacija melase za fermentacionu industriju. Magistarski rad, Tehnološki fakultet, Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Srbija.
59. Jiménez S. M., Tiburzi M. C., Salsi M. S., Pirovani M. E., Moguilevsky M. A. (2003): The role of visible faecal material as a vehicle for generic *Escherichia coli*, coliform,

- and other enterobacteria contaminating poultry carcasses during slaughtering. *J. Appl. Microbiol.*, **95**, 451-456.
60. Jokić A. (2010): Modelovanje "crossflow" mikrofiltracije suspenzija kvasca primenom koncepta neuronskih mreža i postupka odzivne površine. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, Srbija.
 61. Karre L., Lopez K., Kelly J. K., Getty K. J. K. (2013): Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat Sci.*, **94**, 220-227.
 62. Kegode R. B., Doekott D. K., Khaitsa M. L., Wesley I. V. (2008): Occurrence of *Campylobacter* species, *Salmonella* species and generic *Escherichia coli* in meat products from retail outlets in the Fargo metropolitan area. *J. Food. Saf.*, **28**, 111-125.
 63. Kempf B., Bremer E. (1998): Uptake and synthesis of compatible solutes as microbial stress responses to high-osmolality environments. *Arch. Microbiol.*, **170**, 319-330.
 64. Kim S. W., Park S. K., Kang S. I., Kang H. C., Oh H. J., Bae C. Y., Bae D. H. (2003): Hypocholesterolemic property of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* extracts in human body. *Arch. Pharmacal. Res.*, **26**, 1042-1046.
 65. Kishowar J., Alistair P., Corrinne M. S. (2004): Fatty acid composition, antioxidant and lipid oxidation in chicken breast from different production regimes. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **39**, 443-453.
 66. Kisić Tepavčević D., Šaponjić V., Simić D., Drakulović M., Stošić M., Rakić V., Lončarević G., Kanazir M., Dimitrijević D., Plavša D., Rokvić R., Ćosić J. (2019): Izveštaj o zaraznim bolestima u Republici Srbiji za 2018. godinu. Institut za javno zdravlje Srbije „Dr Milan Jovanović Batut”, Beograd, Srbija, 39.
 67. Knežević V., Pezo L., Lončar B., Filipović V., Nićetin M., Gorjanović S., Šuput D. (2019): Antioxidant Capacity of Nettle Leaves During Osmotic Treatment. *Period. Polytech-Chem.*, **63**, 491-498.
 68. Kojić J., Ilić N., Kojić P., Pezo L., Banjac B., Krulj J., Bodroža Solarov M. (2019): Multiobjective process optimization for betaine enriched spelt flour based extrudates. *J Food Process Eng.* 2019., 42:e12942.
 69. Kovacova-Hanuskova E., Buday T., Gavliakova S., Plevkova J. (2015): Histamine, histamine intoxication and intolerance. *Allergol. Immunopath.*, **43**, 498-506.
 70. Krischek C., Janisch S., Gunther R., Wicke M. (2011): Nutrient composition if broiler and turkey breast meat in relation to age, gender and genetic line of the animals. *J. Food Saf. Food Qual.*, **62**, 73-104.

71. Lamosa P., Martins L. O., Da Costa M. S. (1998): Effects of temperature, salinity, and medium composition on compatible solute accumulation by *Thermococcus* spp. *Appl. Environm. Microbiol.*, **64**, 3591-3598.
72. Lampropoulou K., Drosinos E. H., Nychas, G. J. E. (1996): The effect of glucose supplementation on the spoilage microflora and chemical composition of minced beef stored aerobically or under a modified atmosphere at 4 °C. *Int. J. Food Microbiol.*, **30**, 281-291.
73. Laroche C., Beney L., Marechal P. A, Gervais P. (2001): The effect of osmotic pressure on the membrane fluidity of *Saccharomyces cerevisiae* at different physiological temperatures, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **56**, 249-254.
74. Le Maguer M. (1988): Osmotic dehydration: review and future directions. Proceedings of the symposium in food preservation process. Brussels: CERFCI, 283-309.
75. Lee H. S., Kwon M., Heo S., Kim M. G., Kim G. B. (2017): Characterization of the Biodiversity of the Spoilage Microbiota in Chicken Meat Using Next Generation Sequencing and Culture Dependent Approach. *Korean J. Food Sci. An.*, **37**, 535-541.
76. Lee Y. S., Xiong R., Saha A., Owens C. M., Meullenet J. F. (2008): Changes in broiler breast fillet tenderness, water-holding capacity, and color attributes during long-term freezing. *J. Food Sci.*, **73**, E162-E168.
77. Lesiow T., Sazmanko T., Korzeniowska M., Bobak L., Oziembowski M. (2009): Influence of the season of the year on some technological parameters and ultrastructure of PSE, normal and DFD chicken breast muscles. Proceedings XIX European Symposium on the Quality of Poultry Meat, 21-25. June 2009, Turku, Finnland, 21-25.
78. Lewicki P. P., Lenart A. (2006): Osmotic dehydration of fruits and vegetables, in: Handbook of Industrial Drying, 3rd ed., Ed.: Mujumdar U. A. S., Taylor & Francis Group, Boca Raton, 665-689.
79. Liu B., Peng B. (2017): Modelling and Optimization of Process Parameters for Strawberry Osmotic Dehydration Using Central Composite Rotatable Design. *J. Food Qual.*, **2017**, ID 2593213.
80. Loganayaki N., Siddhuraju P., Manian S. (2013): Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of phenolic extracts from *Helicteres isora* L. and *Ceiba pentandra* L, *J. Food Sci. Technol.*, **50**, 687-695.

81. Lončar B. (2015): Hemometrijski pristup analizi osmotske dehidratacije srebrnog karaša (*Carassius gibelio*). Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, Srbija.
82. Lonergan S. M., Deeb N., Fedler C. A., Lamont S. J. (2003): Breast Meat Quality And Composition in Unique Chicken Populations. *Poult. Sci.*, **82**, 1990-1994.
83. Lundén J. M., Autio T. J., Korkeala H. J. (2002): Transfer of persistent *Listeria monocytogenes* contamination between food-processing plants associated with a dicing machine. *J. Food. Prot.*, **65**, 1129-1133.
84. Madamba P. S. (2002): The response surface methodology: an application to optimize dehydration operations of selected agricultural crops. *LWT - Food Sci. Technol.*, **35**, 584-592.
85. Mahmood M. S., Ahmed A. N., Hussain I. (2003): Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Poultry Meat, Poultry Meat Products and Other Related Inanimates at Faisalabad. *Pak. J. Nutr.*, **2**, 346-349.
86. Mandala I. G., Anagnostaras E. F., Oikonomou C. K. (2005): Influence of osmotic dehydration conditions on apple air-drying kinetics and their quality characteristics. *J. Food Eng.*, **69**, 307-316.
87. Mandić A. (2007). Antioksidativna svojstva ekstrakata semena sorti belog grožđa. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, Srbija.
88. Martin R. A., Moss M.O. (2008): Food Microbiology, 3rd ed., University of Surrey, Guildford, 216-230, 235-248.
89. McKee L. (2012a): Microbiological and Sensory Properties of Fresh and Frozen Pork Products, in: *Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality*, 2nd ed., Eds.: Nollet L. M. L., Boylston T., Chen F., Coggins P. C., Hyldig G., McKee L. H., Kerth C. R., Wiley-Blackwell, 292-307.
90. McKee L. (2012b): Microbiological and Sensory Properties of Fresh and Frozen Poultry, in: *Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality*. 2nd ed., Eds.: Nollet L. M. L., Boylston T., Chen F., Coggins P. C., Hyldig G., McKee L. H., Kerth C. R., Wiley-Blackwell, 373-389.
91. Mendes, R. (2009): Biogenic amines, in: *Fishery products Quality, Safety and Authenticity*. Eds.: Rehbein, H., Oehlenschlager, J., Blackwell Publishing Ltd., Oxford, 42-67.
92. Microsoft, MS Office 2016, Excel 2016, Redmond, WA 98052, USA.

93. Mille Y., Beney L., Gervais P. (2002): Viability of *Escherichia coli* after combined osmotic and thermal treatment: a plasma membrane implication. *Biochim. Biophys. Acta*, **1567**, 41-48.
94. Milutinović M., Šiler-Marinković S., Antonović D., Mihajlović K., Pavlović M., Dimitrijević-Branković S. (2013): Antioksidativna svojstva sušenih ekstrakata iz otpadne espresso kafe. *Hem. Ind.*, **67**, 261-267.
95. Mišljenović N., Koprivica G., Pezo L., Lević Lj., Ćurčić B., Filipović V., Nićetin M. (2012): Optimization of the osmotic dehydration of carrot cubes in sugar beet molasses. *Therm. Sci.*, **16**, 43-52.
96. Molina I., Toldrá F. (1992): Detection of proteolytic activity in microorganisms isolated from dry-cured ham. *J. Food Sci.*, **57**, 1308-1310.
97. Moreira R., Sereno A. M. (2003): Evaluation of mass transfer coefficients and volumetric shrinkage during osmotic dehydration of apple using sucrose solutions in static and non-static conditions. *J. Food Eng.*, **57**, 25-31.
98. Moreno J., Chiral A., Escriche I., Serra J. A. (2000): Effect of blanching/osmotic dehydration combined methods on quality and stability of minimally processed strawberries. *Food Res. Int.*, **33**, 609-616.
99. Moure A., Cruz J. M., Franco D., Dominguez J. M., Sineiro J., Domínguez H., Nunez M. J., Parajo J. C. (2001): Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem.*, **72**, 145-171.
100. Mpundu P., Mbewe A. R., Muma J. B., Zgambo J., Munyeme M. (2019): Evaluation of Bacterial Contamination in Dressed Chickens in Lusaka Abattoirs. *Front. Public Health.*, **7**, 19.
101. Myers R. H. i Montgomery D. C. (2002): Response Surface Methodology: Product and Process Optimization Using Designed Experiments. John Wiley & Sons, New York, 1-12.
102. Němečková I., Pechačová M., Roubal P. (2009): Problems with Detection of Proteolytic Microorganisms and Their Undesirable Activities in Milk. *Czech J. Food Sci.*, **27**, S282-S289.
103. Nićetin M., Pezo L., Lončar B., Filipović V., Šuput D., Knežević V., Filipović J. (2017): The possibility to increase antioxidant activity of celery root during osmotic treatment. *J. Serb. Chem. Soc.*, **82**, 253-265.

104. NidaUllah H., Omar A. K. M., Rosma A., Huda N., Sohni S. (2016): Analysis of *Salmonella* Contamination in Poultry Meat at Various Retailing, Different Storage Temperatures and Carcass Cuts - A Literature Survey. *Int. J. Poult. Sci.*, **15**, 111-120.
105. NMKL Method 86, 5th Ed., 2013, Aerobic Microorganisms. Determination in foods at 37 °C, 30 °C, 25 °C, 20 °C, 17/7 °C or 6.5 °C by the colony count method, koji zamenuje 4th edition of NMKL 86 i NMKL 74 for Psychrotrophic microorganisms.
106. Nobile M. A., Conte A. (2013): Packaging for Food Preservation, Springer, New York, USA, 5-14.
107. Northcutt J. K., Berrang M. E., Dickens J. A., Fletcher D. L., Cox N. A. (2003): Effect of broiler age, feed withdrawal and transportation on level of coliforms, *Campylobacter*, *Escherichia coli* and *Salmonella* on carcasses before and after immersion chilling. *Poult. Sci.*, **82**, 169-173.
108. Ojenyi B., Christensen J., Bisgard M. (2000): Comparative investigations of *Listeria monocytogenes* isolated from a turkey processing plant, turkey products, and from human cases of listeriosis in Denmark. *Epidemiol. Infect.*, **125**, 303-308.
109. Olbrich H. (1963): The Molasses. Institut für Zuckerindustrie, Berlin, Germany, 123.
110. Olivares A., Navarro J., Flores M. (2009): Establishment of the contribution of volatile compounds to the aroma of fermented sausages at different stages of processing and storage. *Food Control*, **115**, 1464-1472.
111. Owens C. M., Hirschler E. M., McKee S. R., Martinez-Dawson R., Sams A. R. (2000): The characterisation and incidence of pale, soft, exudative turkey meat in commercial plant. *Poult. Sci.*, **79**, 553-558.
112. Panikulangara T. J., Eggers-Schumacher G., Wunderlich M. (2004): Galactinol synthase1. A novel heat shock factor target gene responsible for heat-induced synthesis of raffinose family oligosaccharides in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, **136**, 3148-3158.
113. Papastergiadis A., Mubiru E., Van Langenhove H., de Meulenaer B. (2012): Malondialdehyde measurement in oxidized foods: Evaluation of the spectrophotometric thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) test in various foods. *J. Agric. Food Chem.*, **60**, 9589-9594.
114. Paul, D. (2013): Osmotic stress adaptations in rhizobacteria. *J. Basic Microbiol.*, **53**, 101-110.
115. Petracci M., Baeza E. (2009): Harmonization of methodology of assessment of poultry meat quality features. Working Parer of WPSA Working Group 5 Poultry Meat. World's Poultry Science Association, UK, 1-18.

116. Petrović Lj., Ivanović S., Šojić B., Mandić A., Tasić T., Džinić N., Tomović V. (2010): Uticaj vremena skladištenja na tok lipidne oksidacije u smrznutom svinjskom mesu. Tehnologija mesa, **51**, 18-26.
117. Pezo L., Ćurčić B., Filipović V., Nićetin M., Koprivica G., Mišljenović N., Lević Lj. (2013): Artificial neural network model of pork meat cubes osmotic dehydration. Hem. Ind., **67**, 465-475.
118. Pezo L., Pezo M., Jovanović A., Čolović R., Vukmirović Đ., Banjac V., Đuragić O. (2018): The joint mixing action of the static pre-mixer and the rotating drum mixer – Discrete element method approach. Adv. Powder Technol., **29**, 1734-1741.
119. Pichpol D. (2009): Experimental Reduction of *Salmonella* in Raw Chicken Breasts. Inaugural Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin, Freien Universität Berlin, Deutschland.
120. Pooni G. S., Mead G. C. (1984): Prospective use of temperature function integration for predicting the shelf-life of non-frozen poultry-meat products. Food Microbiol., **1**, 67-78.
121. Potter N. N., Hotchkiss J. H. (1998): Food Science. 5. izdanje, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, USA, 200-231.
122. Pravilnik o kvalitetu usitnjene mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa (2019): Službeni glasnik Republike Srbije, br. 50/2019.
123. Pravilnik o opštim i posebnim uslovima higijene hrane u bilo kojoj fazi proizvodnje, prerade i prometa (2010): Službeni glasnik Republike Srbije, br. 72/2010 i 62/2018.
124. Proença J. T., Barral D. C., Gordo I. (2017): Commensal-to-pathogen transition: One-single transposon insertion results in two pathoadaptive traits in *Escherichia coli* - macrophage interaction. Sci. Rep., **7**, 4504.
125. Pui C. F., Wong W. C., Chai L. C., Tunung R., Ponniah J. (2011): *Salmonella*: a foodborne pathogen. Int. Food Res. J., **18**, 465-473.
126. Qi H., LeMaguer M., Sharma S. K. (1998): Design and Selection of Processing Conditions of a Pilot Scale Contactor for Continuous Osmotic Dehydration of Carrots. J. Food Process Eng., **21**, 75-88.
127. Rašeta M., Vranić V., Branković Lazić I., Teodorović V., Bunčić O., Grbić Z., Lakićević B. (2014): Higijena procesa proizvodnje trupova brojlera. Tehnologija mesa, **55**, 54-59.
128. Ratti C. (2009): Advances in Food Dehydration. CRC Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, 189-190.

129. Rede R., Petrović Lj. (1997): Tehnologija mesa i nauka o mesu. Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, Srbija, 405-476.
130. Ribeiro Júnior J. C., de Oliveira A. M., de Silva F. G., Tamanini R., Ade Oliveira. L. M., Beloti V. (2018): The main spoilage-related psychrotrophic bacteria in refrigerated raw milk. *J. Dairy Sci.*, **101**, 75-83.
131. Ristić M., Freudenreich P., Damme K. (2008): Hemski sastav živinskog mesa – poređenje brojlera, kokoši, čuraka, pataka i gusaka. *Tehnologija mesa*, **49**, 94-99.
132. Ristić M., Freudenreich P., Damme K., Werner R., Schüssler G., Köstner U., Ehrhardt S. (2007): Hemski sastav mesa brojlera u zavisnosti od porekla i godine proizvodnje. *Tehnologija mesa*, **48**, 203-207.
133. Ross C. F., Smith, D. M. (2006): Use of volatiles as indicators of lipid oxidation in muscle foods. *Compr. Rev. Food Sci. F.*, **5**, 18-25.
134. Ruiz-Capillas C., Herrero A. (2019): Impact of Biogenic Amines on Food Quality and Safety. *Foods*, **8**, 62.
135. Russell S. (2010): Spoilage bacteria associated with poultry, in: *Poultry Meat Processing*, 2nd ed., Eds.: Owens C., Alvarado C. i Sams A., CRC PressTaylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 205-230.
136. Schmitt R. E., Schmidt-Lorenz W. (1992): Formation of ammonia and amines during microbial spoilage of refrigerated broilers. *LWT-Food Sci Technol.*, **25**, 6-10.
137. Sereno A. M., Hubinger M. D., Comesañac J. F., Correa A. (2001): Prediction of water activity of osmotic solutions. *J. Food Eng.*, **49**, 103-114.
138. Sevinc N., Demirkan E. (2011): Production of Protease by *Bacillus* sp. N-40 Isolated from Soil and its Enzymatic Properties. *J. Biol. Environ. Sci.*, **5**, 95-103.
139. Sharma K. P., Chattopadhyay U. K. (2015): Assessment of microbial load of raw meat samples sold in open markets of city of Kolkata. *J. Agric. Vet. Sci.*, **8**, 24-27.
140. Shi J., Le Maguer M. (2002): Analogical cellular structure changes in solid–liquid contacting operations. *LWT-Food Sci Technol.*, **35**, 444-451.
141. Shi J., Le Maguer M. (2003): Mass transfer in cellular material at solid–liquid contacting interface. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, **36**, 3-11.
142. Shi J., Xue S. J. (2009): Application and Development of Osmotic Dehydration Technology in Food Processing, in: *Advances in Food Dehydration*, ed.: Ratti C., Taylor & Francis Group, Boca Raton, 190-231.
143. Sleator R. D., Hill C. (2002): Bacterial osmoadaptation: the role of osmolytes in bacterial stress and virulence. *FEMS Microbiol. Rev.*, **26**, 49-71.

144. SRPS EN ISO 11133:2015, Mikrobiologija hrane, hrane za životinje i vode – Pripremanje, proizvodnja, čuvanje i ispitivanje performansi podloga za kulturu.
145. SRPS EN ISO 19343:2017, Mikrobiologija lanca hrane – Otkrivanje i kvantifikacija histamina u ribi i proizvodima od ribe – HPLC metoda.
146. SRPS EN ISO 21528-2:2017, Mikrobiologija lanca hrane – Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja Enterobacteriaceae – Deo 2: Tehnika brojanja kolonija.
147. SRPS EN ISO 4833-1:2014, Mikrobiologija lanca hrane — Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama — Deo 1: Brojanje kolonija na 30 °C tehnikom nalivanja ploče.
148. SRPS EN ISO 5492:2015, Senzorske analize – Rečnik.
149. SRPS EN ISO 6579-1:2017, Mikrobiologija lanca hrane — Horizontalna metoda za otkrivanje, određivanje broja i serotipizaciju *Salmonella* — Deo 1: Otkrivanje *Salmonella* spp.
150. SRPS EN ISO 6887-2:2017, Mikrobiologija lanca hrane — Pripremanje uzoraka za ispitivanje, početne suspenzije i decimalnih razblaženja za mikrobiološko ispitivanje — Deo 2: Specifična pravila za pripremanje mesa i proizvoda od mesa.
151. SRPS ISO 11290-1:2017, Mikrobiologija lanca hrane – Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja *Listeria monocytogenes* i *Listeria* spp. – Deo 1: Metoda otkrivanja.
152. SRPS ISO 11290-2:2017, Mikrobiologija lanca hrane – Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja *Listeria monocytogenes* i *Listeria* spp. – Deo 2: Metoda određivanja broja.
153. SRPS ISO 16649-2:2008, Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalni metodi za određivanje broja β-glukuronidaza pozitivne *Escherichia coli* - Deo 2: Tehnika brojanja kolonija na 44 °C pomoću 5-bromo-4-hloro-3-indolil β-D-glukuronida.
154. SRPS ISO 18787: 2019, Prehrambeni proizvodi – Određivanje aktivnosti vode.
155. STATSOFT STATISTICA (2010). v.10, StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA.
156. Stavric S., Buchanan B., Gleeson T. M. (1993): Intestinal colonization of young chicks with *Escherichia coli* O157:H7 and other verotoxin-producing serotypes. J. Appl. Bacteriol., **74**, 557-563.
157. Stošić Z., Karabasil N., Mitić M., Teodorović V., Špegar V. (2007): Salmonela – putevi kontaminacije i kontrola u lancu proizvodnje mesa brojlera. Živinarstvo, **42**, 2-13.

158. Suihko M. L., Salo S., Niclasen O., Gudbjörnsdottir B., Torkelsson G., Bredholt S., Sjöberg A. M., Gustavsson P. (2002): Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from the meat, poultry and seafood industries by automated ribotyping. Int. J. Food Microbiol., **72**, 137-146.
159. Šimat V. (2010): Usporedba dva komercijalna testa za kvantitativnu analizu histamina u ribi. Meso, **11**, 333-341.
160. Šojić B., Tomović V., Jokanović M., Ikonić P., Džinić N., Kocić-Tanackov S., Popović Lj., Tasić T., Savanović J., Živković Šojić N. (2017): Antioxidant Activity of *Juniperus communis* L. Essential Oil in Cooked Pork Sausages. Czech J. Food Sci., **35**, 189-193.
161. Šojić B., Tomović V., Kocić-Tanackov S., Škaljac S., Ikonić P., Džinić N., Živković N., Jokanović M., Tasić T., Kravić S. (2015): Effect of nutmeg (*Myristica fragrans*) essential oil on the oxidative and microbial stability of cooked sausage during refrigerated storage. Food Control, **54**, 282-286.
162. Šušić S., Sinobad V. (1989): Istraživanja u cilju unapređenja industrije šećera Jugoslavije. Hem. Ind., **43**, 10-21.
163. Šušić S., Petrov S., Kukić G., Sinobad V., Perunović P., Koronovac B., Bašić Đ. (1995): Osnovi tehnologije šećera. Naučna knjiga, Univerzitet u Beogradu, Srbija, 193-266.
164. Takara K., Ushijima K., Wada K., Iwasaki H., Yamashita M. (2007): Phenolic compounds from sugarcane molasses possessing antibacterial activity against cariogenic bacteria. J. Oleo. Sci., **56**, 611-614.
165. Thalasso F., Burgt van der J., O'Flaherty V., Colleran E. (1999): Large scale anaerobic degradation of betaine. J. Chem. Technol. Biot., **74**, 1176-1182.
166. Tortora G., Funke B., Case, C. (2013): Microbiology an introduction, 11th ed., Pearson Education, Inc. Glenview, 91-93, 153-158.
167. USDA (2006): National Nutrient Database for Standard Reference, http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl.
168. USDA-FSIS (2000): Microbiological testing program for meat and poultry, www.fsis.usda.gov/OA/background/mircotest.htm.
169. Valli V., Gomez-Caravaca A., Di Nunzio M., Danesi F., Fiorenza Caboni M., Bordoni A. (2012): Sugar Cane and Sugar Beet Molasses, Antioxidant-rich Alternatives to Refined Sugar. J. Agric. Food Chem., **60**, 12508-12515.

170. Van Heerden S. M., Schonfeldt H. C., Smith M. F., Jansen van Rensburg D. M. (2002): Nutrient Content of South African Chickens. *J. Food Compos. Anal.*, **15**, 47-64.
171. Vaskas T., Dahesht E., Seifi S., Rahmani M., Motaghifar A., Safanavee R. (2012): Study and comparison of the bacterial contamination outbreak of chicken meat consumed in some cities of Mazandaran province, Iran. *Afr. J. Microbiol. Res.*, **6**, 6286-6290.
172. Vasseur C., Baverel L., He'braud M., Labadie J. (1999): Effect of osmotic, alkaline, acid or thermal stresses on the growth and inhibition of *Listeria monocytogenes*. *J. Appl. Microbiol.*, **86**, 469-476.
173. Vesković S. M., Đukić D. A. (2015): Bioprotektori u proizvodnji hrane. Agronomski fakultet u Čačku, Univerzitet u Kragujevcu, Čačak, Srbija, 15-17.
174. Visessanguan W., Benjakul S., Riebroy S., Mongkol Yarchai N., Tapingkae W. (2006): Changes in lipid composition and fatty acid profile of Nham, a Thai fermented pork sausage, during fermentation. *Food Chem.*, **94**, 580-588.
175. Vranešić B. D., Verbanac D., Krznarić Ž. (2010): Intolerancija na histamin. *Dijatetika*, **86**, 174-178.
176. Vučurović V. (2012): Alkoholna fermentacija melase i gustog soka šećerne repe pomoću imobilisanih ćelija *Saccharomyces cerevisiae*. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Srbija.
177. Wattanachant S., Benjakul S., Ledward D. A. (2004): Composition, Color and Texture of Thai Indigenous and Broiler Chicken Muscles. *Poult. Sci.*, **83**, 123-128.
178. Wenjiao F., Yongkui Z., Yunchuan C., Junxiu S., Yuwen, Y. (2013): TBARS predictive models of pork sausages stored at different temperatures. *Meat Sci.*, **96**, 1-4.
179. Yadav A. K., Singh S. V. (2014): Osmotic dehydration of fruits and vegetables: a review. *Food Sci. Technol.*, **51**, 1654-1673.
180. Yeo J., Jeong M. K., Lee J. (2012): Correlation of Antioxidant Content and Absorbance Changes of DPPH During Lipid Oxidation. *Food Sci. Biotechnol.*, **21**, 199-203.
181. Zhang Z. Y., Jia G. Q., Zuo J. J., Zhang Y., Lei J., Ren L., Feng D. Y. (2012): Effects of constant and cyclic heat stress on muscle metabolism and meat quality of broiler breast fillet and thigh meat. *Poult. Sci.*, **91**, 2931-2937.
182. Zhao C., Ge B., De Villena J., Sudler R., Yeh E., Zhao S., White D., Wagner D., Meng J. (2001): Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* and *Salmonella*

- serovars in retail chicken, turkey, pork and beef from the Greater Washington, D.C. area. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 5431-5436.
183. Zhao L., Jin Y., Ma C., Song H., Li H., Wang Z., Xiao S. (2011): Physicochemical characteristics and free fatty acid composition of dry fermented mutton sausages as affected by the use of various combinations of starter culturesand spices. *Meat Sci.*, **88**, 761-766.
184. Živkov-Baloš M. (2004): Uticaj korišćenja fitaze u ishrani brojlera na proizvodne rezultate, iskoristljivost fosfora i stepen mineralizacije koštanog sistema. Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija.

7. PRILOZI

7.1 NOMENKLATURA

Skraćen naziv	Pun naziv (“naziv na engleskom jeziku“)
ANOVA	Analiza varijanse
a_w	Aktivnost vode
c_{fu}	Jedinice koje formiraju kolonije (“Colony Forming Units“)
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EFSA	Evropska agencija za bezbednost hrane (“European Food Safety Authority“)
ETEC	Enterotoksigeni sojevi <i>Escherichia coli</i>
HACCP	Sistem bezbednosti hrane (“Hazard Analysis and Critical Control Points“)
HDC	L-histidin dekarboksilaza
HPLC	Tečna hromatografija pod visokim pritiskom (“High Pressure Liquid Chromatography“)
MBE	Srednja greška pristrasnosti (“Mean Bias Error“)
MDA	Malondialdehid
MPE	Srednja procentna greška (“Mean Percentage Error“)
r²	Koeficijent korelacije
RMSE	Koren srednje kvadratne greške (“Root Mean Square Error“)
RSM	Metod odzivne površine (“Response Surface Methodology“)
RTE	Proizvodi spremni za konzumiranje (“Ready to eat“)
s. m.	Suva materija
SOP	Polinom drugog reda (“Second Order Polynomial“)
SVV	Sposobnost vezivanja vode
TBARS	2-tiobarbiturna kiselina
USDA	Ministarstvo poljoprivrede Sjedinjenih Američkih Država (“United States Department of Agriculture“)
WR	Smanjenje mase (“Weight Reduction“)
Π	Osmotski pritisak
χ²	Redukovani “chi“ na kvadrat

7.2 TABELE

Tabela P.1 Vrednosti odziva procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi u vodenom rastvoru

Redni broj	Temperatura (°C)	Vreme (h)	Koncentracija (% s. m.)	Sadržaj suve materije (%)	Gubitak vode (g/g _{i.s.})	Prirost suve materije (g/g _{i.s.})	a _w
				Srednja vrednost±standardna devijacija			
1	20	1	45	35,92 ±0,49 ^a	0,1845 ±0,0098 ^a	0,0870 ±0,0026 ^{a,b}	0,910 ±0,010 ^d
2	20	3	45	42,97 ±0,31 ^{c,d}	0,2780 ±0,0026 ^{e,f}	0,1184 ±0,0036 ^{f,j}	0,891 ±0,007 ^{b-d}
3	20	5	45	45,88 ±0,14 ^{e,f}	0,3099 ±0,0011 ^{g,f}	0,1140 ±0,0044 ^{e-h}	0,875 ±0,003 ^{b-d}
4	32	1	45	39,05 ±0,81 ^b	0,2260 ±0,0070 ^b	0,1007 ±0,0050 ^{b-f}	0,908 ±0,009 ^d
5	32	3	45	44,24 ±1,05 ^{d,e}	0,3003 ±0,0143 ^{f,g}	0,1122 ±0,0104 ^{d-h}	0,890 ±0,008 ^{b-d}
6	32	5	45	48,70 ±0,66 ^{g,h}	0,3359 ±0,0054 ^{h,i}	0,1210 ±0,0074 ^{g-j}	0,870 ±0,011 ^{b-d}
7	44	1	45	41,05 ±1,21 ^{b,c}	0,2454 ±0,010 ^{b,c}	0,0882 ±0,0100 ^{a-c}	0,905 ±0,005 ^{c,d}
8	44	3	45	49,12 ±0,33 ^{g,h}	0,3618 ±0,0033 ^{j,k}	0,1348 ±0,0025 ^{i-k}	0,878 ±0,007 ^{b-d}
9	44	5	45	50,13 ±0,43 ^{g,h}	0,3670 ±0,0025 ^{j,k}	0,1365 ±0,0033 ^{j-l}	0,875 ±0,002 ^{b-d}
10	20	1	52,5	39,44 ±0,23 ^b	0,2376 ±0,0020 ^{b,c}	0,0853 ±0,0040 ^{a,b}	0,905 ±0,003 ^{c,d}
11	20	3	52,5	44,58 ±0,45 ^{d,e}	0,3198 ±0,0082 ^{g,h}	0,1213 ±0,0062 ^{g-j}	0,875 ±0,004 ^{b-d}
12	20	5	52,5	48,21 ±0,18 ^g	0,3464 ±0,0015 ^{i,j}	0,1215 ±0,0034 ^{g-j}	0,860 ±0,006 ^{a-d}
13	32	1	52,5	39,96 ±1,04 ^b	0,2529 ±0,0088 ^{c,d}	0,0935 ±0,0078 ^{a-d}	0,903 ±0,007 ^{c,d}
14	32	3	52,5	50,48 ±0,02 ^h	0,3737 ±0,0001 ^{k,l}	0,1068 ±0,0011 ^{c-g}	0,870 ±0,011 ^{b-d}
15	32	5	52,5	53,10 ±0,02 ^{i,j}	0,3993 ±0,0001 ^m	0,1289 ±0,0031 ^{h-k}	0,852 ±0,05 ^{a-d}
16	44	1	52,5	43,13 ±1,37 ^{c,d}	0,3003 ±0,0116 ^{f,g}	0,0956 ±0,0096 ^{b-e}	0,884 ±0,09 ^{b-d}
17	44	3	52,5	52,84 ±1,48 ^{i,j}	0,4125 ±0,0112 ^m	0,1174 ±0,0012 ^{f,j}	0,858 ±0,012 ^{a-d}
18	44	5	52,5	56,13 ±0,13 ^{k-m}	0,4539 ±0,0009 ^{n,o}	0,1547 ±0,0049 ^{l,m}	0,851 ±0,007 ^{a-d}
19	20	1	60	40,68 ±0,28 ^b	0,2734 ±0,0023 ^{d,e}	0,0762 ±0,0029 ^a	0,879 ±0,006 ^{b-d}
20	20	3	60	49,96 ±0,60 ^{g,h}	0,3929 ±0,0189 ^{l,m}	0,1160 ±0,0087 ^{f-i}	0,846 ±0,004 ^{a-d}

Redni broj	Temperatura (°C)	Vreme (h)	Koncentracija (% s. m.)	Sadržaj suve materije (%)	Gubitak vode (g/g _{i.s.})	Prirast suve materije (g/g _{i.s.})	a _w
				Srednja vrednost±standardna devijacija			
21	20	5	60	50,91 ±0,55 ^{h,i}	0,4107 ±0,0038 ^m	0,1341 ±0,0048 ^{i-k}	0,839 ±0,009 ^{a-c}
22	32	1	60	44,62 ±0,74 ^{d,e}	0,3436 ±0,0115 ^{h-j}	0,0958 ±0,0084 ^{b-e}	0,872 ±0,004 ^{b-d}
23	32	3	60	54,71 ±0,68 ^{j,k}	0,4423 ±0,0047 ⁿ	0,1133 ±0,0059 ^{e-h}	0,841 ±0,003 ^{a-c}
24	32	5	60	57,11 ±0,08 ^{l,m}	0,4702 ±0,0041 ^{o,p}	0,1336 ±0,0051 ^{i-k}	0,835 ±0,008 ^{a,b}
25	44	1	60	47,97 ±1,19 ^{f,g}	0,3520 ±0,0121 ^{i-k}	0,0908 ±0,0100 ^{a-c}	0,867 ±0,009 ^{b-d}
26	44	3	60	55,95 ±0,76 ^{k,l}	0,4590 ±0,0050 ^{n-p}	0,1457 ±0,0054 ^{k-m}	0,855 ±0,002 ^{a-d}
27	44	5	60	58,30 ±0,22 ^m	0,4791 ±0,0014 ^p	0,1597 ±0,0024 ^m	0,800 ±0,001 ^a

^{a-p} Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od p<0,05 (na osnovu “post-hoc Tukey HSD” testa)

Tabela P.2 Vrednosti odziva procesa osmotske dehidratacije mesa pilećih grudi u melasi

Redni broj	Temperatura (°C)	Vreme (h)	Koncentracija (% s. m.)	Sadržaj suve materije (%)	Gubitak vode (g/g _{i.s.})	Pirast suve materije (g/g _{i.s.})	a _w
				Srednja vrednost±standardna devijacija			
1	20	1	60	40,77 ±1,76 ^a	0,2856 ±0,014 ^a	0,0905 ±0,0140 ^{a,b}	0,904 ±0,004 ^{g,h}
2	20	3	60	51,08 ±0,98 ^{e,f}	0,4147 ±0,0068 ^{f,g}	0,1225 ±0,0068 ^{b-e}	0,897 ±0,006 ^{f-h}
3	20	5	60	54,58 ±0,24 ^{f-h}	0,4506 ±0,0016 ^{h,i}	0,1129 ±0,0016 ^{c-g}	0,885 ±0,011 ^{e-g}
4	32	1	60	42,03 ±0,59 ^{a,b}	0,2815 ±0,0048 ^a	0,1033 ±0,0048 ^{a-d}	0,912 ±0,005 ^h
5	32	3	60	52,29 ±3,03 ^{e-g}	0,4009 ±0,022 ^{e,f}	0,1183 ±0,0220 ^{b-f}	0,897 ±0,007 ^{f-h}
6	32	5	60	56,84 ±0,04 ^{h-j}	0,4549 ±0,0002 ^{h,i}	0,1176 ±0,0002 ^{b-f}	0,880 ±0,008 ^{e-g}
7	44	1	60	45,06 ±1,00 ^{b-d}	0,3286 ±0,0077 ^{c,d}	0,0802 ±0,0077 ^a	0,900 ±0,010 ^{g,h}
8	44	3	60	56,93 ±0,63 ^{h-j}	0,4603 ±0,0042 ^{h-j}	0,1389 ±0,0042 ^{d-g}	0,89 ±0,005 ^{e-h}
9	44	5	60	59,87 ±0,38 ^{j,k}	0,4840 ±0,0025 ^{j-m}	0,1306 ±0,0025 ^{e-g}	0,873 ±0,008 ^{d-f}
10	20	1	70	42,03 ±0,56 ^{ab}	0,2955 ±0,0044 ^{ab}	0,0803 ±0,0044 ^a	0,897 ±0,006 ^{f-h}
11	20	3	70	54,28 ±0,68 ^{f-h}	0,4478 ±0,0046 ^k	0,1129 ±0,0046 ^{b-e}	0,873 ±0,003 ^{d-f}
12	20	5	70	56,93 ±0,09 ^{h-j}	0,4864 ±0,0006 ^{j-m}	0,1236 ±0,0006 ^{c-g}	0,872 ±0,008 ^{d,e}
13	32	1	70	42,09 ±1,13 ^{a,b}	0,2888 ±0,0089 ^{a,b}	0,0931 ±0,0090 ^{a,b}	0,901 ±0,009 ^{g,h}
14	32	3	70	55,75 ±2,12 ^{g-i}	0,4362 ±0,0149 ^{g,h}	0,1289 ±0,0149 ^{d-g}	0,872 ±0,004 ^{d,e}
15	32	5	70	59,91 ±1,06 ^{j,k}	0,4905 ±0,0068 ^{k-m}	0,1290 ±0,0068 ^{d-g}	0,850 ±0,009 ^{c,d}
16	44	1	70	46,28 ±1,03 ^{c,d}	0,3496 ±0,0077 ^d	0,0847 ±0,0077 ^a	0,893 ±0,008 ^{e-h}
17	44	3	70	61,24 ±0,61 ^{k,l}	0,5086 ±0,0038 ^{m-o}	0,1265 ±0,0038 ^{c-g}	0,871 ±0,010 ^{d,e}
18	44	5	70	65,02 ±0,36 ^{l,m}	0,5445 ±0,0021 ^p	0,1319 ±0,0021 ^{e-g}	0,842 ±0,004 ^c
19	20	1	80	44,27 ±0,32 ^{a-c}	0,3247 ±0,0025 ^{c,d}	0,0991 ±0,0025 ^{a-c}	0,895 ±0,009 ^{e-f}
20	20	3	80	55,77 ±1,66 ^{g-i}	0,4634 ±0,0110 ^{h-k}	0,1256 ±0,0110 ^{c-g}	0,854 ±0,007 ^{c,d}
21	20	5	80	58,86 ±1,71 ^{i-k}	0,4963 ±0,0108 ^{l-n}	0,1283 ±0,0108 ^{d-g}	0,836 ±0,006 ^{b,c}
22	32	1	80	45,18 ±2,12 ^{b-d}	0,3149 ±0,0167 ^{b,c}	0,0938 ±0,0167 ^{a,b}	0,898 ±0,009 ^{g,h}

Redni broj	Temperatura (°C)	Vreme (h)	Koncentracija (% s. m.)	Sadržaj suve materije (%)	Gubitak vode (g/g _{i.s.})	Prirost suve materije (g/g _{i.s.})	a _w
				Srednja vrednost±standardna devijacija			
23	32	3	80	58,69 ±1,64 i-k	0,4758 ±0,0107 i-l	0,1306 ±0,0108 d-g	0,849 ±0,008 c,d
24	32	5	80	64,76 ±0,40 l,m	0,5283 ±0,0025 o,p	0,1443 ±0,0025 f,g	0,812 ±0,006 a,b
25	44	1	80	48,82 ±0,39 d,e	0,3776 ±0,0028 e	0,1032 ±0,0028 a-d	0,890 ±0,007 e-h
26	44	3	80	62,15 ±1,84 k,l	0,5241 ±0,0109 n-p	0,1325 ±0,0109 e-g	0,841 ±0,003 c
27	44	5	80	68,69 ±0,62 m	0,5810 ±0,0034 q	0,1492 ±0,0034 g	0,809 ±0,003 a

^{a-q} Različita slova u eksponentu u istoj koloni tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od p<0,05 (na osnovu “post-hoc Tukey HSD” testa)

Tabela P.3a Redukcioni odnosi ispitivanih mikroorganizama u vodenom rastvoru

R. br.	Vreme (h)	Koncen- tracija (% s. m.)	Tempe- ratura (°C)	Redukcioni odnos (srednja vrednost±standardna devijacija)				
				<i>E. coli</i>	<i>L. mono- cytogenes</i>	<i>Salmo- nella</i> spp.	Enteroba- cteriaceae	UBB
				Srednja vrednost±standardna devijacija				
Vodeni rastvor								
1.	0	45	20	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
2.	0,5	45	20	1,20 ±0,00 ¹	1,85 ±0,05 ¹	1,08 ±0,01 ^{1,2}	1,14 ±0,03 ^{1,3}	1,27 ±0,03 ^{1,2}
3.	1	45	20	1,78 ±0,01 ^{1,2}	2,94 ±0,19 ¹	1,24 ±0,02 ¹⁻⁵	1,28 ±0,03 ¹⁻⁵	1,55 ±0,08 ¹⁻⁵
4.	2	45	20	2,95 ±0,01 ¹⁻⁴	3,97 ±0,44 ¹	1,63 ±0,09 ¹⁻¹⁰	1,52 ±0,09 ¹⁻⁸	1,88 ±0,06 ¹⁻⁸
5.	3	45	20	5,73 ±0,02 ¹⁻⁶	5,94 ±0,99 ¹	2,41 ±0,12 ¹⁰⁻¹⁹	1,86 ±0,05 ¹⁻¹⁰	2,30 ±0,09 ¹⁻¹²
6.	5	45	20	12,63 ±0,51 ⁶⁻¹¹	28,34 ±2,95 ^{1,2}	2,86 ±0,17 ¹⁵⁻²⁴	2,05 ±0,05 ¹⁻¹⁰	2,82 ±0,00 ²⁻¹⁵
7.	0	52,5	20	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
8.	0,5	52,5	20	1,29 ±0,00 ¹	2,39 ±0,05 ¹	1,08 ±0,01 ¹⁻³	1,08 ±0,02 ^{1,2}	1,36 ±0,01 ¹⁻³
9.	1	52,5	20	2,00 ±0,00 ¹⁻³	3,02 ±0,19 ¹	1,27 ±0,02 ¹⁻⁵	1,25 ±0,06 ¹⁻⁴	1,56 ±0,01 ¹⁻⁵
10.	2	52,5	20	3,46 ±0,03 ¹⁻⁴	5,14 ±0,34 ¹	1,79 ±0,06 ¹⁻¹²	1,60 ±0,02 ¹⁻¹⁰	1,97 ±0,03 ¹⁻¹⁰
11.	3	52,5	20	7,05 ±0,34 ¹⁻⁷	10,06 ±0,16 ¹	2,89 ±0,18 ¹⁶⁻²⁴	2,09 ±0,01 ¹⁻¹⁰	2,88 ±0,06 ³⁻¹⁵
12.	5	52,5	20	16,81 ±0,03 ⁹⁻¹⁴	36,77 ±3,67 ¹⁻³	3,24 ±0,18 ¹⁹⁻²⁶	2,37 ±0,02 ²⁻¹²	3,47 ±0,06 ¹⁰⁻¹⁵
13.	0	60	20	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
14.	0,5	60	20	1,39 ±0,01 ^{1,2}	2,77 ±0,20 ¹	1,18 ±0,05 ¹⁻⁴	1,19 ±0,07 ¹⁻⁴	1,38 ±0,00 ¹⁻³
15.	1	60	20	2,16 ±0,00 ¹⁻³	3,53 ±0,47 ¹	1,49 ±0,01 ¹⁻⁹	1,46 ±0,00 ¹⁻⁶	1,76 ±0,05 ¹⁻⁷
16.	2	60	20	4,04 ±0,04 ¹⁻⁴	8,25 ±0,95 ¹	2,31 ±0,11 ⁹⁻¹⁸	2,04 ±0,10 ¹⁻¹⁰	2,53 ±0,11 ¹⁻¹⁴
17.	3	60	20	8,62 ±0,29 ¹⁻⁹	12,73 ±0,23 ¹	3,24 ±0,24 ¹⁹⁻²⁶	2,38 ±0,12 ²⁻¹²	3,22 ±0,07 ⁷⁻¹⁵
18.	5	60	20	21,76 ±0,02 ¹³⁻¹⁷	75,75 ±7,89 ¹⁻⁶	3,58 ±0,37 ²⁴⁻²⁹	2,81 ±0,21 ⁷⁻¹³	4,13 ±0,26 ¹⁵⁻¹⁷
19.	0	45	32	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
20.	0,5	45	32	1,31 ±0,04 ¹	6,28 ±0,95 ¹	1,23 ±0,11 ¹⁻⁵	1,28 ±0,01 ¹⁻⁴	1,68 ±0,07 ¹⁻⁶
21.	1	45	32	1,84 ±0,08 ^{1,2}	10,45 ±0,23 ¹	1,45 ±0,17 ¹⁻⁸	1,57 ±0,03 ¹⁻⁹	2,24 ±0,10 ¹⁻¹²
22.	2	45	32	2,40 ±0,09 ¹⁻³	30,75 ±1,66 ^{1,2}	2,04 ±0,01 ⁵⁻¹⁵	2,21 ±0,02 ¹⁻¹¹	3,13 ±0,05 ⁶⁻¹⁵
23.	3	45	32	6,25 ±0,32 ¹⁻⁶	49,38 ±9,38 ¹⁻³	3,04 ±0,11 ¹⁷⁻²⁵	4,10 ±0,10 ¹³⁻¹⁷	5,68 ±0,19 ¹⁸⁻²¹

R. br.	Vreme (h)	Koncen- tracija (% s. m.)	Tempe- ratura (°C)	Redukcioni odnos (srednja vrednost±standardna devijacija)				
				<i>E. coli</i>	<i>L. mono- cytogenes</i>	<i>Salmo- nella</i> spp.	Enteroba- cteriaceae	UBB
				Srednja vrednost±standardna devijacija				
24.	5	45	32	24,36 ±1,19 ¹⁴⁻¹⁸	174,00 ±14,00 ¹⁻⁸	4,32 ±0,01 ²⁹⁻³¹	7,28 ±0,05 ²²⁻²⁶	10,59 ±0,21 ²⁷⁻²⁸
25.	0	52,5	32	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
26.	0,5	52,5	32	1,29 ±0,04 ¹	8,27 ±0,61 ¹	1,08 ±0,00 ^{1,2}	1,22 ±0,02 ¹⁻⁴	1,68 ±0,03 ¹⁻⁶
27.	1	52,5	32	2,01 ±0,01 ¹⁻³	10,23 ±0,12 ¹	1,29 ±0,04 ¹⁻⁶	1,56 ±0,01 ¹⁻⁸	1,71 ±0,41 ¹⁻⁷
28.	2	52,5	32	2,74 ±0,04 ¹⁻⁴	38,18 ±5,32 ¹⁻³	2,28 ±0,12 ⁸⁻¹⁸	2,46 ±0,05 ³⁻¹²	3,48 ±0,08 ¹⁰⁻¹⁶
29.	3	52,5	32	5,40 ±0,17 ¹⁻⁶	72,25 ±14,75 ¹⁻⁴	3,52 ±0,12 ²²⁻²⁹	4,18 ±0,14 ¹⁴⁻¹⁷	6,31 ±0,03 ¹⁹⁻²³
30.	5	52,5	32	26,54 ±0,36 ¹⁷⁻¹⁹	260,00 ±30,00 ²⁻¹⁰	5,34 ±0,34 ^{32,33}	8,16 ±0,08 ²⁵⁻²⁷	11,92 ±0,62 ²⁸⁻²⁹
31.	0	60	32	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
32.	0,5	60	32	1,75 ±0,00 ^{1,2}	9,00 ±0,07 ¹	1,39 ±0,03 ¹⁻⁷	1,60 ±0,07 ¹⁻¹⁰	2,00 ±0,03 ¹⁻¹⁰
33.	1	60	32	2,33 ±0,18 ¹⁻³	12,11 ±0,06 ¹	1,98 ±0,05 ⁴⁻¹⁴	2,16 ±0,12 ¹⁻¹¹	2,73 ±0,22 ²⁻¹⁵
34.	2	60	32	3,02 ±0,04 ¹⁻⁴	62,50 ±7,50 ¹⁻⁴	2,90 ±0,22 ¹⁶⁻²⁴	2,84 ±0,16 ⁸⁻¹³	3,83 ±0,10 ¹³⁻¹⁷
35.	3	60	32	7,52 ±0,65 ¹⁻⁷	104,00 ±16,00 ¹⁻⁸	4,14 ±0,36 ²⁷⁻³¹	5,37 ±0,35 ¹⁷⁻²⁰	7,27 ±0,85 ²²⁻²⁵
36.	5	60	32	49,22 ±5,22 ^{23,24}	430,00 ±10,00 ^{10,11}	7,14 ±0,22 ³⁵⁻³⁷	14,16 ±1,09 ³⁰	16,78 ±0,55 ³¹
37.	0	45	44	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
38.	0,5	45	44	1,05 ±0,00 ¹	10,00 ±0,00 ¹	1,24 ±0,04 ¹⁻⁵	1,11 ±0,00 ¹⁻²	1,60 ±0,02 ¹⁻⁶
39.	1	45	44	1,21 ±0,00 ¹	19,12 ±0,88 ¹	1,52 ±0,03 ¹⁻⁹	1,35 ±0,01 ¹⁻⁵	1,90 ±0,03 ¹⁻⁹
40.	2	45	44	1,28 ±0,00 ¹	99,06 ±4,16 ¹⁻⁸	2,29 ±0,10 ⁸⁻¹⁸	1,63 ±0,04 ¹⁻¹⁰	2,36 ±0,05 ¹⁻¹³
41.	3	45	44	1,42 ±0,01 ¹⁻²	208,50 ±14,75 ¹⁻¹⁰	3,05 ±0,20 ¹⁷⁻²⁵	1,98 ±0,02 ¹⁻¹⁰	2,98 ±0,02 ⁴⁻¹⁵
42.	5	45	44	1,55 ±0,01 ¹⁻²	421,43 ±21,43 ⁸⁻¹⁰	4,63 ±0,16 ³⁰⁻³²	2,35 ±0,09 ²⁻¹²	3,56 ±0,10 ¹¹⁻¹⁶
43.	0	52,5	44	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
44.	0,5	52,5	44	1,02 ±0,00 ¹	30,18 ±0,51 ^{1,2}	1,18 ±0,03 ¹⁻⁴	1,11 ±0,00 ^{1,2}	1,63 ±0,02 ¹⁻⁶
45.	1	52,5	44	1,20 ±0,01 ¹	60,54 ±3,04 ¹⁻⁴	1,70 ±0,01 ¹⁻¹⁰	1,45 ±0,02 ¹⁻⁶	1,97 ±0,03 ¹⁻¹⁰
46.	2	52,5	44	1,44 ±0,06 ^{1,2}	193,14 ±9,14 ¹⁻⁸	2,41 ±0,14 ¹⁰⁻¹⁹	1,77 ±0,05 ¹⁻¹⁰	2,59 ±0,05 ²⁻¹⁴
47.	3	52,5	44	1,60 ±0,06 ^{1,2}	312,26 ±5,60 ⁸⁻¹⁰	2,90 ±0,17 ¹⁶⁻²⁴	2,09 ±0,02 ¹⁻¹⁰	3,01 ±0,11 ⁴⁻¹⁵
48.	5	52,5	44	1,85 ±0,04 ^{1,2}	773,57 ±116,43 ^{12,13}	6,33 ±0,52 ^{34,35}	2,91 ±0,03 ⁹⁻¹⁴	4,16 ±0,02 ¹⁵⁻¹⁸

R. br.	Vreme (h)	Koncen- tracija (% s. m.)	Tempe- ratura (°C)	Redukcioni odnos (srednja vrednost±standardna devijacija)				
				<i>E. coli</i>	<i>L. mono- cytogenes</i>	<i>Salmo- nella</i> spp.	Enteroba- cteriaceae	UBB
				Srednja vrednost±standardna devijacija				
49.	0	60	44	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
50.	0,5	60	44	1,25 ±0,02 ¹	40,30 ±1,20 ¹⁻³	1,42 ±0,02 ¹⁻⁷	1,34 ±0,01 ¹⁻⁵	1,83 ±0,03 ¹⁻⁸
51.	1	60	44	1,53 ±0,06 ^{1,2}	101,88 ±1,88 ¹⁻⁸	2,12 ±0,12 ⁶⁻¹⁶	1,77 ±0,05 ¹⁻¹⁰	2,50 ±0,05 ¹⁻¹⁴
52.	2	60	44	1,84 ±0,05 ^{1,2}	297,08 ±10,38 ⁶⁻¹⁰	2,63 ±0,11 ¹²⁻²¹	2,19 ±0,04 ¹⁻¹¹	3,07 ±0,04 ⁵⁻¹⁵
53.	3	60	44	1,96 ±0,04 ¹⁻³	663,94 ±90,61 ¹²	3,94 ±0,11 ²⁶⁻³⁰	2,62 ±0,08 ⁵⁻¹²	3,69 ±0,09 ¹²⁻¹⁷
54.	5	60	44	2,48 ±0,10 ¹⁻³	1305,95 ±77,38 ¹⁵	7,25 ±0,48 ^{36,37}	3,58 ¹²⁻¹⁶ ±0,12	5,15 ±0,24 ¹⁷⁻²⁰

¹⁻³⁹ Različiti brojevi u eksponentu u istoj koloni tabele P.3 a i b ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od p<0,05 (na osnovu “post-hoc Tukey HSD” testa)

Tabela P.3b Redukcioni odnosi ispitivanih mikroorganizama u melasi

R. br.	Vreme (h)	Koncen- tracija (% s. m.)	Tempe- ratura (°C)	Redukcioni odnos (srednja vrednost±standardna devijacija)				
				<i>E. coli</i>	<i>L. mono- cytogenes</i>	<i>Salmo- nella</i> spp.	Enteroba- cteriaceae	UBB
				Srednja vrednost±standardna devijacija				
Melasa								
55.	0	60	20	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
56.	0,5	60	20	1,04 ±0,02 ¹	2,17 ±0,15 ¹	1,29 ±0,05 ¹⁻⁶	1,20 ±0,03 ¹⁻⁴	1,38 ±0,08 ¹⁻³
57.	1	60	20	2,00 ±0,12 ¹⁻³	3,03 ±0,35 ¹	1,75 ±0,08 ¹⁻¹¹	1,83 ±0,08 ¹⁻¹⁰	2,01 ±0,13 ¹⁻¹⁰
58.	2	60	20	8,22 ±1,58 ¹⁻⁸	4,61 ±0,28 ¹	2,20 ±0,11 ⁷⁻¹⁷	3,44 ±0,31 ¹¹⁻¹⁵	3,68 ±0,27 ¹²⁻¹⁷
59.	3	60	20	12,30 ±0,44 ⁵⁻¹¹	70,33 ±9,67 ¹⁻⁴	3,43 ±0,28 ²¹⁻²⁸	5,26 ±0,26 ¹⁷⁻²⁰	7,41 ±0,59 ²³⁻²⁵
60.	5	60	20	33,37 ±2,40 ¹⁹⁻²¹	214,70 ±16,88 ¹⁻¹⁰	3,67 ±0,33 ²⁴⁻²⁹	6,30 ±0,47 ²⁰⁻²³	9,05 ±0,95 ^{26,27}
61.	0	70	20	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
62.	0,5	70	20	1,08 ±0,02 ¹	2,85 ±0,18 ¹	1,43 ±0,05 ¹⁻⁷	1,18 ±0,00 ¹⁻⁴	1,40 ±0,01 ¹⁻³
63.	1	70	20	2,31 ±0,02 ¹⁻³	3,27 ±0,13 ¹	1,87 ±0,09 ²⁻¹³	1,12 ±0,90 ¹⁻²	2,31 ±0,08 ¹⁻¹³
64.	2	70	20	26,16 ±1,42 ¹⁷⁻¹⁹	6,29 ±0,79 ¹	2,57 ±0,13 ¹¹⁻²⁰	4,46 ±0,30 ¹⁵⁻¹⁸	5,00 ±0,25 ¹⁶⁻¹⁹
65.	3	70	20	27,73 ±1,62 ¹⁷⁻²⁰	83,89 ±10,56 ¹⁻⁷	3,56 ±0,28 ²³⁻²⁹	6,00 ±0,45 ¹⁹⁻²²	8,51 ±0,88 ^{25,26}
66.	5	70	20	45,71 ±4,84 ^{22,23}	247,10 ±27,10 ²⁻¹⁰	4,08 ±0,46 ²⁶⁻³⁰	7,12 ±0,88 ²²⁻²⁵	10,36 ±1,57 ²⁷
67.	0	80	20	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
68.	0,5	80	20	1,24 ±0,01 ¹	3,41 ±0,27 ¹	1,40 ±0,03 ¹⁻⁷	1,26 ±0,01 ¹⁻⁴	1,50 ±0,05 ¹⁻⁴
69.	1	80	20	2,69 ±0,12 ¹⁻³	6,71 ±1,39 ¹	1,95 ±0,09 ⁴⁻¹⁴	2,28 ±0,07 ¹⁻¹²	2,72 ±0,08 ²⁻¹⁵
70.	2	80	20	25,76 ±1,43 ¹⁶⁻¹⁹	16,46 ±0,42 ¹	2,68 ±0,12 ¹³⁻²²	4,65 ±0,23 ¹⁵⁻¹⁸	5,83 ±0,34 ¹⁹⁻²²
71.	3	80	20	39,06 ±4,44 ²¹⁻²²	82,66 ±5,39 ¹⁻⁷	4,01-2 ±0,44 ⁶⁻³⁰	6,77 ±0,64 ²¹⁻²⁵	9,24 ±0,76 ^{26,27}
72.	5	80	20	56,07 ±6,07 ²⁴	8300 ±200 ¹⁷	4,96 ±0,20 ^{31,32}	8,48 ±0,22 ^{26,27}	12,14 ±0,47 ²⁹
73.	0	60	32	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
74.	0,5	60	32	1,48 ±0,01 ^{1,2}	14,31 ±0,43 ¹	1,18 ±0,01 ¹⁻⁴	1,38 ±0,02 ¹⁻⁵	1,77 ±0,05 ¹⁻⁷
75.	1	60	32	2,89 ±0,01 ¹⁻⁴	20,10 ±1,12 ¹	1,90 ±0,07 ²⁻¹⁴	2,40 ±0,04 ²⁻¹²	3,42 ±0,12 ⁹⁻¹⁵
76.	2	60	32	7,44 ±0,10 ¹⁻⁷	72,56 ±14,44 ¹⁻⁵	3,26 ±0,42 ²⁰⁻²⁶	4,76 ±0,38 ¹⁵⁻¹⁹	6,70 ±0,74 ²¹⁻²³
77.	3	60	32	16,19 ±0,70 ⁸⁻¹⁴	113,81 ±10,48 ¹⁻⁸	4,30 ±0,47 ²⁹⁻³¹	7,41-2 ±0,85 ³⁻²⁶	10,14 ±1,02 ²⁷
78.	5	60	32	69,78 ±11,89 ²⁵	900 ±30 ^{13,14}	7,19 ±0,91 ^{36,37}	13,48 ±1,13 ^{29,30}	16,69 ±0,37 ³¹
79.	0	70	32	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

R. br.	Vreme (h)	Koncen- tracija (% s. m.)	Tempe- ratura (°C)	Redukcioni odnos (srednja vrednost±standardna devijacija)				
				<i>E. coli</i>	<i>L. mono- cytogenes</i>	<i>Salmo- nella</i> spp.	Enteroba- cteriaceae	UBB
				Srednja vrednost±standardna devijacija				
				±0,00 ¹	±0,00 ¹	±0,00 ¹	±0,00 ¹	±0,00 ¹
80.	0,5	70	32	1,56 ±0,06 ^{1,2}	23,61 ±0,63 ^{1,2}	1,47 ±0,05 ¹⁻⁹	1,50 ±0,04 ¹⁻⁷	1,97 ±0,10 ¹⁻¹⁰
81.	1	70	32	3,35 ±0,26 ¹⁻⁴	79,86 ±9,03 ¹⁻⁶	2,03 ±0,07 ⁵⁻¹⁵	2,49 ±0,10 ⁴⁻¹²	3,50 ±0,27 ¹⁰⁻¹⁶
82.	2	70	32	21,50 ±0,88 ¹²⁻¹⁷	306,25 ±93,75 ⁷⁻¹⁰	3,27 ±0,07 ²⁰⁻²⁶	5,42 ±0,30 ¹⁷⁻²⁰	7,44 ±0,62 ²³⁻²⁵
83.	3	70	32	34,77 ±2,83 ^{20,21}	8250 ±250 ¹⁷	4,59 ±0,02 ³⁰⁻³²	7,98 ±1,11 ²⁴⁻²⁷	10,35 ±1,25 ²⁷
84.	5	70	32	89,16 ±13,01 ²⁶	8250 ±250 ¹⁷	7,75 ±0,25 ^{37,38}	13,48 ±1,90 ^{29,30}	16,96 ±1,17 ^{31,32}
85.	0	80	32	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
86.	0,5	80	32	1,84 ±0,05 ^{1,2}	29,26 ±3,78 ^{1,2}	1,35 ±0,03 ¹⁻⁶	1,50 ±0,04 ¹⁻⁷	2,04 ±0,04 ¹⁻¹¹
87.	1	80	32	3,60 ±0,63 ¹⁻⁴	205,67 ±47,67 ¹⁻⁹	1,79 ±0,05 ¹⁻¹²	2,38 ±0,18 ²⁻¹²	3,33 ±0,32 ⁸⁻¹⁵
88.	2	80	32	21,97 ±0,85 ¹³⁻¹⁷	775 ±15 ^{12,13}	3,08 ±0,16 ¹⁸⁻²⁵	5,29 ±0,29 ¹⁷⁻²⁰	6,97 ±0,14 ²¹⁻²⁴
89.	3	80	32	47,34 ±2,10 ²³	7750 ±150 ¹⁶	4,25 ±0,45 ²⁸⁻³¹	7,58 ±0,68 ²³⁻²⁶	9,57 ±0,82 ^{26,27}
90.	5	80	32	110,44 ±11,48 ²⁷	7750 ±150 ¹⁶	8,60 ±0,99 ³⁹	18,59 ±0,41 ³¹	18,33 ±0,33 ^{32,33}
91.	0	60	44	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
92.	0,5	60	44	1,17 ±0,04 ¹	29,85 ±0,49 ^{1,2}	1,20 ±0,00 ¹⁻⁵	1,22 ±0,03 ¹⁻⁴	1,68 ±0,03 ¹⁻⁶
93.	1	60	44	4,38 ±0,34 ¹⁻⁵	67,00 ±6,33 ¹⁻⁴	1,93 ±0,07 ³⁻¹⁴	2,77 ±0,01 ⁶⁻¹³	3,96 ±0,01 ¹⁴⁻¹⁷
94.	2	60	44	9,57 ±0,75 ²⁻¹⁰	296,79 ±29,14 ⁵⁻¹⁰	2,60 ±0,15 ¹²⁻²¹	4,19 ±0,03 ¹⁴⁻¹⁷	6,20 ±0,16 ¹⁹⁻²³
95.	3	60	44	13,34 ±0,41 ⁶⁻¹²	598,66 ±29,91 ^{11,12}	2,90 ±0,14 ¹⁶⁻²⁴	4,88 ±0,12 ¹⁶⁻¹⁹	7,14 ±0,23 ²¹⁻²⁵
96.	5	60	44	17,85 ±0,83 ¹¹⁻¹⁶	1055,56 ±44,44 ¹⁴	5,99 ±0,30 ^{33,34}	9,30 ±0,20 ^{27,28}	13,30 ±0,70 ²⁹
97.	0	70	44	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
98.	0,5	70	44	1,94 ±0,06 ¹⁻³	60,50 ±4,88 ¹⁻⁴	1,20 ±0,01 ¹⁻⁵	1,48 ±0,05 ¹⁻⁷	1,97 ±0,03 ¹⁻¹⁰
99.	1	70	44	6,44 ±0,06 ¹⁻⁶	212,44 ±10,06 ¹⁻¹⁰	1,38 ±0,03 ¹⁻⁷	2,29 ±0,07 ¹⁻¹²	3,35 ±0,02 ⁸⁻¹⁵
100.	2	70	44	10,94 ±0,07 ⁴⁻¹¹	799,17 ±90,83 ^{12,13}	2,86 ±0,11 ¹⁵⁻²⁴	4,60 ±0,16 ¹⁵⁻¹⁸	6,57 ±0,26 ²⁰⁻²³
101.	3	70	44	17,37 ±0,13 ¹⁰⁻¹⁵	8700 ±200 ¹⁸	3,32 ±0,22 ²⁰⁻²⁷	5,76 ±0,49 ¹⁸⁻²¹	8,29 ±0,46 ²⁴⁻²⁶
102.	5	70	44	23,88 ±0,62 ¹⁴⁻¹⁸	8700 ±200 ¹⁸	6,74 ±0,34 ³⁴⁻³⁶	10,56 ±0,56 ²⁹	15,03 ±0,53 ³⁰
103.	0	80	44	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹	1,00 ±0,00 ¹
104.	0,5	80	44	5,25 ±0,25 ¹⁻⁶	71,42 ±7,58 ¹⁻⁴	1,21 ±0,01 ¹⁻⁵	1,96 ±0,14 ¹⁻¹⁰	2,82 ±0,18 ³⁻¹⁵

R. br.	Vreme (h)	Koncen- tracija (% s. m.)	Tempe- ratura (°C)	Redukcioni odnos (srednja vrednost±standardna devijacija)				
				<i>E. coli</i>	<i>L. mono- cytogenes</i>	<i>Salmo- nella</i> spp.	Enteroba- cteriaceae	UBB
				Srednja vrednost±standardna devijacija				
105.	1	80	44	10,10 ±0,10 ³⁻¹¹	281,61 ±22,24 ⁴⁻¹⁰	1,64 ±0,06 ¹⁻¹⁰	2,91 ±0,13 ¹⁰⁻¹⁴	4,16 ±0,19 ¹⁵⁻¹⁸
106.	2	80	44	15,03 ±0,03 ⁷⁻¹³	957,64 ±79,86 ^{13,14}	2,73 ±0,23 ¹⁴⁻²³	4,72 ±0,16 ¹⁶⁻¹⁹	6,73 ±0,35 ^{2 1-23}
107.	3	80	44	25,19 ±0,19 ¹⁵⁻¹⁹	8100 ±200 ¹⁷	3,82 ±0,32 ²⁵⁻³⁰	6,78 ±0,72 ²¹⁻²⁴	9,57 ±0,78 ^{26,27}
108.	5	80	44	30,28 ±0,28 ¹⁸⁻²⁰	8100 ±200 ¹⁷	8,52 ±0,98 ^{38,39}	12,56 ±1,44 ²⁹	19,24 ±2,18 ³³

¹⁻³⁹ Različiti brojevi u eksponentu u istoj koloni tabele P.3 a i b ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od p<0,05 (na osnovu “post-hoc Tukey HSD“ testa)

Овај Образац чини саставни део докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта који се брани на Универзитету у Новом Саду. Попуњен Образац укоричити иза текста докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта.

Назив пројекта/истраживања
Утицај процеса осмотске дехидратације на промене микробиолошког профила дехидрираног полу производа од пилећег меса
Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање
a) Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад б) СП Лабораторија, Бечеј
Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање
Истраживања обухваћена овом докторском дисертацијом финансирана су од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, кроз пројекат „Осмотска дехидратација хране – енергетски и еколошки аспекти одрживе производње”, ТР31055 (2011-2019)
1. Опис података
1.1 Врста студије <i>Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају</i> <u>Докторка дисертација</u>
1.2 Врсте података а) квантитативни б) квалитативни
1.3. Начин прикупљања података а) анкете, упитници, тестови б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи в) генотипови: навести врсту _____ г) административни подаци: навести врсту _____ д) узорци ткива, навести врсту: <u>Месо пилећих груди</u> _____ ђ) снимци, фотографије: навести врсту _____ е) текст, навести врсту: <u>Литературни наводи</u> _____ ж) мапа, навести врсту _____

3) остало: описати _____

1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

- a) Excel фајл, датотека: Microsoft Excel, ver. 2016, .xlsx
- b) SPSS фајл, датотека _____
- c) PDF фајл, датотека _____
- d) Текст фајл, датотека: Microsoft Word, ver. 2016, .docx
- e) JPG фајл, датотека: Adobe Photoshop, .jpg
- f) Остало, датотека: StatSoft Statistica, ver. 2012, .sta

1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

а) број варијабли: до три независно променљиве _____

б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.): максимални број мерења по истраживању: 108

1.3.3. Поновљена мерења

- а) да
- б) не

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) временски размак између поновљених мера је: 1 дан _____
- б) варијабле које се више пута мере односе се на: Садржај суве материје, актинвост воде, број E. Coli., број Salmonella spp., број L. monocytogenes, број Enterobacteriaceae, укупан број бактерија, број психротрофних микроорганизама, број протеолитичких микроорганизама, садржај хистаминна, вредности садржаја малондиалдехида, вредности садржаја DPPH радикала
- в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као: v.1, v.2, v.3

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

- а) Да
- б) Не

Ако је одговор не, образложити _____

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

- а) експеримент, навести тип: хемијске и микробиолошке анализе
- б) корелационо истраживање, навести тип _____
- ц) анализа текста, навести тип _____
- д) остало, навести шта _____

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

Аналитичка вага, a_w метар, спектрофотометар, дензитометар, бројач колонија, течни хроматограф високе перформансе са UV детектором

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

- а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да Не

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) Колики је број недостајућих података? _____
- б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да Не
- в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Квалитет података је контролисан применом статистичких метода и анализирањем квалитета статистичких параметрата: R², χ², MBE, RMSE, MPE

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

Упоређењем добијених података са литературним подацима

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у Националном Репозиторијуму Дисертација у Србији.

3.1.2. URL адреса: накнадно

3.1.3. DOI: накнадно

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

- a) Да
- б) Да, али после ембарга који ће трајати до _____
- в) Не

Ако је одговор не, навести разлог _____

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

3.2 Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? _____

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? _____

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да Не

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да Не

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да Не

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с л људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности (https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? Да Не

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да Не

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

- a) Подаци нису у отвореном приступу
- б) Подаци су анонимизирани
- в) Остало, навести шта

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

- а) јавно доступни*
- б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области*
- в) затворени*

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

Ивана Филиповић, ivanakazic@yahoo.com

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

Ивана Филиповић, ivanakazic@yahoo.com

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

Ивана Филиповић, ivanakazic@yahoo.com

UNIVERZITET U NOVOM SADU
TEHNOLOŠKI FAKULTET

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Dipl. inž. Ivana Filipović , specijalista mikrobiologije hrane
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof. dr Siniša Markov , redovni profesor
Naslov rada: NR	Uticaj procesa osmotske dehidratacije na promene mikrobiološkog profila dehidriranog poluproizvoda od pilećeg mesa
Jezik publikacije: JP	Srpski jezik, latinica
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	AP Vojvodina
Godina: GO	2020
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Bulevar cara Lazara 1, Novi Sad
Fizički opis rada: FO	8 poglavlja, 150 strana, 35 slika, 22 tabele, 184 literaturnih navoda
Naučna oblast: NO	Prehrambeno inženjerstvo

Naučna disciplina: ND	Prehrambena biotehnologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Osmotska dehidratacija, pileće meso, melasa šećerne repe, <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmoenlla</i> spp., <i>Listeria monocytogenes</i>
UDK	66.047.3:664.151.2:[637.54:579.84 (043.3)]
Čuva se: ČU	Biblioteka Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu
Važna napomena: VN	Istraživanja obuhvaćena ovom doktorskom disertacijom finansirana su od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, kroz projekat „Osmotska dehidratacija hrane – energetski i ekološki aspekti održive proizvodnje”, TR31055 (2011-2019)
Izvod: IZ	Ispitivan je uticaj vrednosti procesnih parametara: na tehnološku efikasnost procesa osmotske dehidratacije pilećeg mesa u vodenom rastvoru NaCl i saharoze i melasi; na nivo redukcije odabranih mikroorganizama (<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Listeria monocytogenes</i>) u osmotskim rastvorima; na mikroorganizme prisutne na dehidrirajućem pilećem mesu; istraživana je podobnost osmotski dehidriranog pilećeg mesa za rast i razmnožavanje odabranih mikroorganizama tokom perioda skladištenja, uz definisanje zdravstveno bezbednog roka skladištenja na osnovu mikrobioloških i hemijskih analiza. Rezultati ispitivanja pokazuju da povećanje vrednosti procesnih parametara temperature, vremena trajanja procesa i koncentracije osmotskih rastvora dovodi do intenziviranja prenosa mase između dehidrirajućeg materijala i rastvora i povećanja efikasnosti procesa. Izlaganjem odabranih mikroorganizma osmotskim rastvorima postignuti su visoki nivoi njihove redukcije. U melasi postignuti su viši nivou redukcije mikroorganizama u poređenju sa vodenim rastvorom. Ostvareni nivoi redukcije odabranih mikroorganizama na pilećem mesu tokom procesa niži su u poređenju sa rezultatima redukcionih odnosa istih mikroorganizama direkno inokulisanih u istim osmotskim rastvorima. Sa protokom vremena skladištenja veštački kontaminiranog i osmotski dehidriranog pilećeg mesa, u oba osmotska rastvora, došlo je do smanjenja broja svih ispitivanih mikroorganizama. Proteolitički mikroorganizami nisu bili prisutni u dehidranom pilećem mesu, dok sadržaj histamina je pokazao da, tokom vremena skladištenja, nije dolazilo do degradacije proteina u mesu. Nakon 10 dana skladištenja meso nije bilo

	<p>užeglo, a vrednosti malondialdehida su ukazale na pojavu užegnuća nakon 14 dana skladištenja. Na osnovu dobijenih rezultata razvijeni su modeli zavisnosti odziva procesa osmotske dehidratacije, nivoa redukcije ispitivanih mikroorganizama u osmotskim rastvorima, nivoa redukcije ispitivanih mikroorganizama na dehidriranom pilećem mesu i mikrobioloških i hemijskih odziva dehidriranog pilećeg mesa tokom skladištenja u zavisnosti od variranih vrednosti parametara procesa.</p> <p>Na osnovu dobijenih rezultata, kao optimalni parametri, mogu da se definišu: trajanje procesa od 5 časova, temperatura od 32°C u melasi, kao osmotskom rastvoru, maksimalne koncentracije. Svi postignuti nivoi redukcije mikroorganizama ukazuju na dobru osnovu za proizvodnju zdravstveno bezbednih proizvoda od pilećeg mesa. Analiza održivosti je pokazala da je osmotski dehidriranom pileće meso mikrobiološki i hemijski stabilno tokom skladištenja na temperaturi od 22 °C u trajanju od najmanje 10 dana.</p>
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	12.7.2018.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	<p>Predsednik: Dr Gordana Dimić, redovnini profesor, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu</p> <p>Mentor: Dr Siniša Markov, redovni profesor, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu</p> <p>Član: Dr Vladimir Tomović, redovni profesor, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu</p> <p>Član: Dr Dragoljub Cvetković, redovni profesor, Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu</p> <p>Član: Dr Lato Pezo, viši naučni saradnik,</p>

Institut za opštu i fizičku hemiju, Univerzitet u
Beogradu

UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF TECHNOLOGY

KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	Ph.D. Thesis
Author: AU	Ivana Filipović , M.Sc., Food Microbiology Specialist
Mentor: MN	Siniša Markov , Ph.D., Full Professor
Title: TI	The Effect of Osmotic Dehydration Process on Microbiological Profile Changes of Dehydrated Chicken Meat Semi-product
Language of text: LT	Serbian language, Latin
Language of abstract: LA	eng. / srp.
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	AP Vojvodina
Publication year: PY	2020
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Bulevar cara Lazara 1, Novi Sad
Physical description: PD	8 chapters, 150 pages, 35 figures, 22 tables, 184 references
Scientific field SF	Food Engineering

Scientific discipline SD	Food Biotechnology
Subject, Key words SKW	Osmotic dehydration, chicken meat, sugar beet molasses, <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmoenlla</i> spp., <i>Listeria monocytogenes</i>
UC	66.047.3:664.151.2:[637.54:579.84 (043.3)
Holding data: HD	Library of the Faculty of Technology, University of Novi Sad
Note: N	Research presented in this thesis was funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Repulic of Serbia, via scientific project titled: Osmotic dehydration of food energy and ecological aspects of sustainable production, TR31055 (2011-2019)
Abstract: AB	<p>The effect of process parameters values on: technological efficiency of chicken meat osmotic dehydration process in water solution of NaCl and sucrose and molasses; selected microorganisms (<i>Escherichia coli</i>, <i>Salmonella</i> spp., <i>Listeria monocytogenes</i>) in osmotic solutions reduction levels; selected microorganisms on dehydrating chicken meat reduction levels, is investigated. The osmodehydrated chicken meat suitability for selected microorganisms' growth and multiplication during storage period is also investigated, together with defining health safe storage period, on the basis of microbiological and chemical analysis.</p> <p>Results shows that increase of process parameters of temperature, duration and osmotic solutions' concentrations leads to mass transfer increase between dehydrating material and osmotic solutions and process efficiency increase. Exposure of selected microorganisms to osmotic solution has led to high levels of reductions of their numbers. Processes in molasses had higher levels of microorganisms' reductions in comparison to the water solution. Achieved levels of the selected microorganisms' on chicken meat reductions were lower in comparison to the results of reduction of the same microorganisms directly inoculated in the same osmotic solutions. With the increase of the inocualted, osmotically dehydrated chicken meat storage time in both osmotic solutions, decrease of all tested microorganisms occured. Proteolytic microorganisms were not detected in dehydrated chiken meat, while histamin content showed that, during storage, there was no meat protein degradation. After 10 days of storage, meat was not rancid, while malondialdehid values showed that lipid oxidation occured after 14 days of storage.</p>

	<p>On the basis of obtained results, mathematical models of dependance of: osmotic dehydration process responses; selected micororganisms in osmotic solutions reduction levels; selected microorganisms on osmodehydrated chicken meat reduction levels; and osmodehydrated chicken meat during storage microbiological and chemical responce; from varied process parameters, were developed.</p> <p>Based on obtained results, as optimal process parameters it can be defined: 5-hour process, at 32 °C, in molasses of maximal concentration, as osmotic solution. All achived microorganisms' reduction levels can indicate on good basis of health safe chicken meat production. Analysis of storage duration has shown that osmotdehydrated chicken meat is microbilogically and chemically stabile during sotrage at 22 °C in period of at least 10 days.</p>
Accepted on Senate on: AS	12.7.2018.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	<p>President: Gordana Dimić, Ph.D., Full Professor, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad</p> <p>Mentor: Siniša Markov, Ph.D., Full Professor, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad</p> <p>Member: Vladimir Tomović, Ph.D., Full Professor, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad</p> <p>Member: Dragoljub Cvetković, Ph.D., Full Professor, Faculty of Technology Novi Sad, University of Novi Sad</p> <p>Member: Lato Pezo, Ph.D., Senior Research Associate, Institute of General and Physical Chemistry, University of Belgrade</p>