



UNIVERZITET U NOVOM SADU  
TEHNOLOŠKI FAKULTET



Doktorska disertacija

**Razvoj procesa sušenja i zrenja tradicionalne  
fermentisane kobasice (*Petrovska klobása*)  
u kontrolisanim uslovima**

Mentor:  
Prof. dr Ljiljana Petrović

Kandidat:  
Predrag Ikonić

Novi Sad, 2013. godine

*Najiskrenije se zahvaljujem mom mentoru prof. dr Ljiljani Petrović na velikom poverenju, znanju, pomoći, angažovanju, idejama i savetima koje mi je pružila kako tokom izrade ove doktorske disertacije, tako i tokom čitavog perioda naše saradnje.*

*Veliko hvala dugujem i prof. dr Miladinu Brkiću, prof. dr Nataši Džinić i doc. dr Vladimiru Tomoviću na konstruktivnim savetima, sugestijama i podršci.*

*Iskreno se zahvaljujem i mojim „mesarima“: Tatjani Tasić, Mariji Jokanović, Snežani Škaljac, Branislavu Šojiću i Violeti Marjanović na prijateljstvu i dragocenoj pomoći kada je to bilo najpotrebnije. Takođe, zahvaljujem se i kolegama sa Instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, koje su na direktan ili indirektan način doprinele da ovaj rad ugleda svetlost dana.*

*Neizmerno se zahvaljujem i mojoj porodici bez koje ne bih bio to što jesam...Bojani na bezgraničnoj ljubavi, strpljenju i razumevanju.*

<b>UNIVERZITET U NOVOM SADU</b> <b>Tehnološki fakultet, Novi Sad</b>
<b>KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA</b>

**Redni broj:**

**RBR**

**Identifikacioni broj:**

**IBR**

**Tip dokumentacije:**

Monografska publikacija

**TD**

**Tip zapisa:**

Tekstualni štampani materijal

**TZ**

**Vrsta rada:**

Doktorica disertacija

**VR**

**Autor:**

Predrag Ikonić, dipl.inž.

**AU**

**Mentor/komentor:**

Dr Ljiljana Petrović, redovni profesor

**MN**

**Naslov rada:**

Razvoj procesa sušenja i zrenja tradicionalne fermentisane kobasice (*Petrovská klobása*) u kontrolisanim uslovima

**NR**

**Jezik publikacije:**

srpski, latinica

**JP**

**Jezik izvoda:**

srpski, engleski

**JI**

**Zemlja publikovanja:**

Srbija

**ZP**

**Uže geografsko područje:**

Vojvodina

**UGP**

**Godina:**

2013.

**GO**

**Izdavač:**

autorski reprint

**IZ**

**Mesto i adresa:**

21000 NOVI SAD, Bulevar cara Lazara 1

**MA**

<b>Fizički opis rada:</b> FO	Broj poglavlja: 8 Strana: 258 Literaturnih citata: 208 Tabela: 37 Slika/Grafika: 81 Priloga: 2
<b>Naučna oblast:</b> NO	Biotehničke nauke
<b>Naučna disciplina:</b> ND	Inženjerstvo konzervisane hrane
<b>Predmetna odrednica/ ključne reči:</b> PO	tradicionalna kobasica, <i>Petrovska klobasa</i> , sušenje i zrenje, razvoj procesa
<b>UDK</b>	637.523 : 664.921 (043.3)
<b>Čuva se:</b> ČU	Biblioteka Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu 21000 NOVI SAD, Srbija, Bulevar cara Lazara 1
<b>Važna napomena:</b> VN	-
<b>Izvod/abstrakt:</b> IA	<p>Zadatak ove doktorske disertacije je bio da se utvrde osobenosti procesa sušenja i zrenja tokom proizvodnje suve fermentisane <i>Petrovačke kobasice (Petrovska klobasa)</i> u tradicionalnim uslovima, a zatim da se na osnovu dobijenih rezultata i stečenih znanja započne razvoj i implementacija optimalnog modela sušenja i zrenja ove kobasice u kontrolisanim uslovima registrovanog objekta za preradu mesa.</p> <p>U cilju realizacije postavljenog zadatka tokom tri proizvodne sezone je izrađeno devet modela <i>Petrovačke kobasice</i> kako bi se ispitao uticaj više varijabilnih faktora (proizvodna sezona, upotreba toplog ili hladnog mesa, ručno ili mašinsko mešanje nadeva, tradicionalni ili kontrolisani uslovi sušenja i zrenja, dodatak starter kulture, pakovanje u vakuumu ili modifikovanoj atmosferi) na intenzitet i brzinu procesa sušenja i zrenja, a posledično i na kvalitet finalnih proizvoda.</p> <p>Tokom proizvodnje kobasica kontinualno su registrovani termo-higrometrijski uslovi u prostorijama za dimljenje, sušenje i zrenje. Kinetika procesa sušenja je utvrđena na osnovu većeg broja pokazatelja, a razlika u intenzitetu spoljašnje i unutrašnje difuzije vlage je utvrđena na osnovu odnosa sadržaja vlage i ukupnog pepela u unutrašnjoj i spoljašnjoj frakciji kobasica. Brzina i intenzitet procesa zrenja su utvrđeni na osnovu nastanka i akumulacije pojedinih azotnih frakcija (NPN, NH<sub>2</sub>-N), kao i redovnim određivanjem kvalitativnog i kvantitativnog sastava ekstrakata sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina uz pomoć savremene analitičke tehnike elektroforetskog razdvajanja proteinskih frakcija na čipu (Lab-on-a-chip metod).</p>

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da optimalni model sušenja i zrenja kobasica izrađenih od hladnog mesa u tradicionalnim uslovima, koji je rezultirao visokim senzornim kvalitetom kobasica ( $\approx 100\%$ ), podrazumeva nizak intenzitet fermentacije, odnosno mali pad vrednosti pH do  $\approx 5,3$  oko 60. dana izrade, te naknadni rast ovog pokazatelja do vrednosti  $\geq 5,4$ . Takva promena pH uz odgovarajuće termohigrometrijske uslove utiče da sušenje kobasica bude sporo, te da 90. dana rezultira gubitkom mase u intervalu od 35 do 40% i sadržajem vlage manjim od 35% (optimalno  $\approx 32\%$ ). Takođe, ovaj model proizvodnje (zrenja) podrazumeva nisku aktivnost katepsina D, produženu inicijalnu fazu proteolize, te intenzivnu hidrolizu miozina, ali ne i aktina. Intenzivna razgradnja miozina tokom procesa zrenja je registrovana i u ostalim grupama kobasica, dok je razgradnja aktina registrovana isključivo u kobasicama koje je tokom proizvodnje karakterisao veliki pad vrednosti pH (0,5 – 0,6 jedinica),

Navedeni model proizvodnje u tradicionalnim uslovima je poslužio kao osnova za razvoj procesa sušenja i zrenja u kontrolisanim uslovima, te je utvrđeno da *Petrovačka kobasica* visokog senzornog kvaliteta ( $>90\%$ ) može biti proizvedena u ovim uslovima, uz znatno kraći period sušenja (60 dana), ali uz dodatnih 60 dana zrenja (skladištenja) u vakuum pakovanju.

Takođe, zaključeno je da dodatak bakterijske starter kulture može pozitivno uticati na ukupni senzorni kvalitet *Petrovačke kobasice* izrađene van uobičajene sezone izrade, ali da je za tu svrhu potrebno razviti autohtonu starter kulturu na bazi mikroorganizama izolovanih iz kobasice proizvedene prema optimalnom modelu u tradicionalnim uslovima.

**Datum prihvatanja teme od strane NN veća:**

27.01.2012. godine

**Datum odbrane:  
DO**

**Članovi komisije (naučni stepen, ime i prezime, fakultet):  
KO**

1. Dr Miladin Brkić, redovni profesor u penziji, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, predsednik,
2. Dr Ljiljana Petrović, redovni profesor u penziji, Tehnološki fakultet, Novi Sad, mentor,
3. Dr Natalija Džinić, vanredni profesor, Tehnološki fakultet, Novi Sad, član,
4. Dr Vladimir Tomović, docent, Tehnološki fakultet, Novi Sad, član.

**UNIVERSITY OF NOVI SAD**  
**Faculty of Technology, Novi Sad**

**KEY WORDS DOCUMENTATION**

**Accession number:**

**ANO**

**Identification number:**

**INO**

**Document type:**

Monographic publication

**DT**

**Type of record:**

Textual material, printed

**TR**

**Contents code:**

Ph. D. thesis

**CC**

**Author:**

Predrag Ikonić, M.Sc.

**AU**

**Menthor/comenthor:**

Ljiljana Petrović, Ph.D, full professor

**MN**

**Title:**

Development of drying and ripening process of traditional fermented sausage (*Petrovska klobasa*) in controlled conditions

**TI**

**Language of text:**

Serbian

**LT**

**Language of abstract:**

Serbian/English

**LA**

**Country of publication:**

Serbia

**CP**

**Locality of publication:**

Vojvodina

**LP**

**Publication year:**

2013.

**PY**

**Publisher:**

Author's reprint

**PB**

**Publication place:** 21000 NOVI SAD, Bulevar cara Lazara 1  
**PL**

**Physical description:** Chapters: 8  
**PD** Pages: 258  
References: 208  
Tables: 37  
Figures/Graphs: 81  
Appendices: 2

**Scientific field:** Biochemical sciences  
**SF**

**Scientific discipline:** Food preservation technologies  
**SD**

**Subject/key words:** traditional sausage, *Petrovska klobasa*, drying and ripening,  
**SX** process development

**VC** 637.523 : 664.921 (043.3)

**Holding date:** Library of Faculty of Technology, Novi Sad  
**HD** 21000 NOVI SAD, Serbia, Bulevar cara Lazara 1

**Note:** -  
**N**

**Abstract:**  
**AB** The aim of this Ph.D. dissertation was to determine the characteristics of drying and ripening processes during traditional production of dry fermented sausage *Petrovska klobasa*, and based on obtained results to develop and implement the optimal model of drying and ripening of *Petrovska klobasa* in controlled conditions of registered meat processing plant.

In order to achieve the defined tasks in three production seasons nine models of *Petrovska klobasa* were produced and analysed to examine the effects of multiple variable factors (production season, usage of hot or cold meat, hand or machine mixing of sausage mixture, traditional or controlled drying and ripening conditions, starter culture addition, vacuum or modified atmosphere packaging) on the intensity and velocity of the drying and ripening processes, and consequently on quality of the final product.

During the sausages production thermo-hygrometric conditions in smoking, drying and ripening rooms were continuously registered. The kinetics of the drying process was determined based on a number of indicators, and the difference in the intensity of external and internal moisture diffusion was determined based on the ratio of moisture and total ash content in the internal and external fractions of sausage. The velocity and intensity of the ripening process were determined based on the formation and accumulation of nitrogen fractions (NPN, NH<sub>2</sub>-N), as well as permanent determination of the qualitative and

quantitative composition of the sarcoplasmic and myofibrillar proteins extracts, performed using modern, electrophoresis based, analytical method (Lab-on-a-chip method).

Based on the obtained results, it can be concluded that the optimal model of drying and ripening, of sausages made from cold meat, in traditional conditions, which resulted in a high sensory quality ( $\approx 100\%$ ), implies low fermentation intensity, i.e. slight decrease of pH value, to  $\approx 5.3$  at about 60th day of production, and subsequent growth of pH to the value of  $\geq 5.4$ . Such pH changes and corresponding thermo-hygrometric conditions impact slow drying process, resulting in the weight loss in the range 35-40% and a moisture content less than 35% ( $\approx 32\%$  is optimal) at 90th day of production. Also, this model of production (ripening) implies a low activity of cathepsin D, extended initial phase of proteolysis and intensive myosin but not actin hydrolysis. During the ripening process intense myosin degradation was also recorded in other groups of sausages, while the degradation of actin was registered only in sausages characterized by a large drop in pH value ( $\approx 0.5 - 0.6$  units) during production.

The above-mentioned model of production in traditional conditions was used as the basis for the development of the drying and ripening processes in controlled conditions, and it was found that *Petrovska klobasa* characterised with high sensory quality ( $>90\%$ ) can be produced in controlled conditions, during shorter drying period (60 days), but with an additional 60 days of ripening (storage) in vacuum packaging.

Also, it was concluded that the addition of starter culture can positively affect the overall sensory quality of *Petrovska klobasa* made out of usual season, but for such production it is necessary to develop an indigenous starter culture based on microorganisms isolated from sausages produced under the optimal model in traditional conditions.

**Accepted by the Scientific Board** 27.01.2012.

**on:**

**ASB**

**Defended on:**

**DE**

**Thesis defend board (Degree/name/surname/faculty):**

**DB**

1. Dr Miladin Brkić, full professor in retirement, Faculty of Agriculture, Novi Sad, president,
2. Dr Ljiljana Petrović, full professor in retirement, Faculty of Technology, Novi Sad, mentor,
3. Dr Natalija Džinić, associate professor, Faculty of Technology, Novi Sad, member,
4. Dr Vladimir Tomović, associate professor, Faculty of Technology, Novi Sad, member.



# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. PREGLED LITERATURE .....	4
2.1. TRADICIONALNA HRANA I GEOGRAFSKE INDIKACIJE .....	4
2.1.1. TRADICIONALNI PROIZVODI OD MESA .....	9
2.2. SUVI FERMENTISANI PROIZVODI OD MESA: ISTORIJA I PRINCIPI PROIZVODNJE .....	13
2.2.1. SUŠENJE MESA KROZ ISTORIJU .....	13
2.2.2. TEORIJSKE OSNOVE PROCESA SUŠENJA HRANE.....	17
2.2.2.1. VLAŽNOST MATERIJALA .....	17
2.2.2.2. VEŠTAČKI POSTUPCI SUŠENJA HRANE .....	23
2.2.3. SUŠENJE MESA I PROIZVODA OD MESA .....	32
2.3. PROCES PROTEOLIZE U SUŠENIM FERMENTISANIM PROIZVODIMA OD MESA .....	40
2.3.1. HEMIJSKI SASTAV I STRUKTURA SKELETNOG MIŠIĆA .....	41
2.3.2. PROTEINI MIŠIĆA .....	45
2.3.2.1. MIOFIBRILARNI PROTEINI – ULTRASTRUKTURA MIOFIBRILA .....	46
2.3.2.2. SARKOPLAZMATSKI PROTEINI .....	52
2.3.2.3. PROTEINI VEZIVNOG TKIVA .....	53
2.3.3. POSTMORTALNI BIOHEMIJSKI PROCESI I PROMENE U MIŠIĆU .....	53
2.3.4. ENZIMSKI SISTEM MIŠIĆA .....	57
2.3.4.1. ENDOPEPTIDAZE.....	57
2.3.4.2. EGZOPEPTIDAZE .....	63
2.3.5. PROTEOLITIČKI ENZIMI MIKROORGANIZAMA .....	64
2.3.6. PROTEOLIZA U SUVOMESNATIM PROIZVODIMA.....	68
2.3.7. PROTEOLIZA U FERMENTISANIM KOBASICAMA .....	71
2.4. FERMENTISANE KOBASICE.....	74
2.4.1. PROCES PROIZVODNJE SUVIH FERMENTISANIH KOBASICA.....	75
2.4.1.1. OSNOVNI SASTOJCI I DODACI .....	75
2.4.1.2. OSNOVNE OPERACIJE PROCESA IZRADE.....	81
2.4.2. SENZORNA SVOJSTVA FERMENTISANIH KOBASICA.....	87
2.5. PETROVAČKA KOBASICA ( <i>Petrovská klobása</i> ) .....	90
3. ZADATAK RADA .....	93
4. MATERIJAL I METODE RADA.....	96
4.1. MATERIJAL RADA.....	96
4.2. METODE RADA .....	101
4.2.1. FIZIČKO-HEMIJSKE ANALIZE.....	101
4.2.1.1. GUBITAK MASE SUŠENJEM (KALO) .....	101
4.2.1.2. SMANJENJE DIJAMETRA .....	101
4.2.1.3. AKTIVNOSTI VODE (AW).....	101
4.2.1.4. VREDNOST pH .....	101
4.2.1.5. SADRŽAJ VLAGE .....	102
4.2.1.6. SADRŽAJ UKUPNOG PEPELA.....	102
4.2.1.7. SADRŽAJ PROTEINA.....	102

4.2.1.8. SADRŽAJ NEPROTEINSKOG AZOTA (NPN).....	102
4.2.1.9. INDEKS PROTEOLIZE (IP) .....	103
4.2.1.10. SADRŽAJ $\alpha$ -AMINOKISELINSKOG AZOTA (NH <sub>2</sub> -N) .....	103
4.2.1.11. TEKSTURA (ČVRSTOĆA) .....	103
4.2.2. ELEKTROFORETSKO RAZDVAJANJE PROTEINA .....	104
4.2.2.1. EKSTRAKCIJA SARKOPLAZMATSKIH I MIOFIBRILARNIH PROTEINA.....	104
4.2.2.2. RAZDVAJANJE EKSTRAHOVANIH PROTEINA NA ČIPU .....	104
4.2.3. REGISTROVANJE TERMO-HIGROMETRIJSKIH USLOVA U PROIZVODNIM PROSTORIJAMA .....	107
4.2.4. SENZORNA ANALIZA .....	107
4.3. STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA.....	108
4.3.1. MATEMATIČKO MODELOVANJE KINETIKE SUŠENJA <i>PETROVAČKE KOBASICE</i> .....	108
5. PRIKAZ REZULTATA .....	110
5.1. PARAMETRI VAZDUHA TOKOM SUŠENJA I ZRENJA U TRADICIONALNIM I KONTROLISANIM USLOVIMA IZRAĐENIH GRUPA <i>PETROVAČKE KOBASICE</i> .....	110
5.1.1. PRVA PROIZVODNA SEZONA.....	110
5.1.2. DRUGA PROIZVODNA SEZONA .....	115
5.1.3. TREĆA PROIZVODNA SEZONA .....	117
5.2.A. REZULTATI ISPITIVANJA KINETIKE PROCESA SUŠENJA IZRAĐENIH GRUPA <i>PETROVAČKE KOBASICE</i> .....	120
5.2.A.1. GUBITAK MASE SUŠENJEM – KALO SUŠENJA .....	120
5.2.A.2. SMANJENJE DIJAMETRA KOBASICA .....	122
5.2.A.3. AKTIVNOST VODE – AW VREDNOST.....	125
5.2.A.4. VREDNOST pH .....	127
5.2.A.5. SADRŽAJ VLAGE .....	131
5.2.A.6. SADRŽAJ UKUPNOG PEPELA.....	136
5.2.A.7. REZULTATI MODELOVANJA KINETIKE SUŠENJA .....	141
5.2.B. REZULTATI ISPITIVANJA INTENZITETA I BRZINE ZRENJA IZRAĐENIH GRUPA <i>PETROVAČKE KOBASICE</i> .....	145
5.2.B.1. SADRŽAJ PROTEINA .....	145
5.2.B.2. SADRŽAJ NEPROTEINSKOG AZOTA (NPN).....	147
5.2.B.3. INDEKS PROTEOLIZE (IP).....	149
5.2.B.4. SADRŽAJ $\alpha$ -AMINOKISELINSKOG AZOTA (NH <sub>2</sub> -N).....	151
5.2.B.5. KVALITATIVAN I KVANTITATIVAN SASTAV EKSTRAKATA SARKOPLAZMATSKIH I MIOFIBRILARNIH PROTEINA.....	153
5.2.C. REZULTATI ISPITIVANJA NEKIH POKAZATELJA KVALITETA <i>PETROVAČKE KOBASICE</i> .....	177
5.2.C.1. TEKSTURA (ČVRSTOĆA).....	177
5.2.C.2. SENZORNI KVALITET <i>PETROVAČKE KOBASICE</i> .....	180
6. DISKUSIJA.....	182
7. ZAKLJUČAK .....	221
8. LITERATURA.....	225
PRILOG 1 .....	241
PRILOG 2 .....	257

## 1. UVOD

Očekivanja i zahtevi savremenih potrošača u pogledu bezbednosti, nutritivnog i senzornog kvaliteta prehrambenih proizvoda rastu iz dana u dan. Zahvaljujući mnogobrojnim incidentima vezanim za biološku i/ili hemijsku kontaminaciju industrijski proizvedene hrane, te kampanjama o štetnosti prehrambenih aditiva, rezidua veterinarskih lekova, pesticida i drugih pomoćnih sredstava koja se koriste u masovnoj proizvodnji hrane, savremena prehrambena industrija je u velikoj meri izgubila poverenje potrošača. Sa druge strane, tradicionalna hrana vrlo često ima pozitivan efekat na zdravlje čoveka, te se generalno smatra zdravom i dobrom u svakom pogledu, a s obzirom na sve veću javnu svest o potrebi konzumiranja bezbedne i nutritivno bogate hrane potražnja za tradicionalnim prehrambenim proizvodima je u stalnom porastu. S tim u vezi, u Evropskoj Uniji je razvijen sistem razlikovanja ovih prehrambenih proizvoda. Oni su najčešće povezani sa određenom geografskom indikacijom, a vizuelna oznaka istaknuta na samom proizvodu pruža potrošačima garanciju kvaliteta u pogledu bezbednosti, nutritivnih i senzornih karakteristika, porekla, tradicije i načina proizvodnje.

Zaštita i promocija ovakvih proizvoda može doprineti očuvanju raznovrsnosti hrane, odnosno kulturnog nasleđa i tradicije različitih zajednica, te razvoju ruralnih područja kroz povećanje obima proizvodnje, koje je uslovljeno većom ponudom i potrošnjom. Prepoznavanje i jačanje veze između jedinstvenih karakteristika kvaliteta proizvoda i geografskog mesta na kojem se on proizvodi, kao i izgradnja reputacije tog proizvoda, omogućava da lokalni proizvodni kapaciteti, iako smešteni u ruralnoj i, po pravilu, nerazvijenoj sredini, proizvode novu vrednost namenjenu globalnom tržištu.

Međutim, mali, lokalni proizvođači često ne mogu da zadovolje sve oštrije kriterijume zakonske regulative u pogledu bezbednosti hrane, kako sa ekonomskog tako i sa aspekta očuvanja jedinstvenih kvalitativnih karakteristika tradicionalnog proizvoda. Naime, proizvođači često moraju da biraju između očuvanja specifičnog načina proizvodnje i osobina proizvoda sa jedne strane, i ispunjavanja svih zakonom predviđenih higijensko-sanitarnih uslova u pogledu uređenja objekta i postupka proizvodnje sa druge strane, što uglavnom znači gubitak identiteta proizvoda.

U tom pogledu zadatak nauke je da sagleda i objasni osobenosti tradicionalnih tehnologija, te da na osnovu stečenih znanja, a na ekonomski prihvatljiv način, razvije proces proizvodnje bezbednog proizvoda u odgovarajućim higijensko-sanitarnim uslovima, uz očuvanje specifičnog i prepoznatljivog kvaliteta. Evropska Unija je u prethodnoj deceniji uložila značajna sredstva u istraživanja vezana za tradicionalnu hranu. Finansiran je veliki broj naučnih projekata (okvirni programi FP5, FP6 i FP7), a njihov fokus su bile sledeće teme: pozitivan uticaj konzumiranja tradicionalne hrane na zdravlje, inovacije u tradicionalnoj proizvodnji radi obezbeđivanja hemijske i mikrobiološke ispravnosti, održivi razvoj i ispitivanje tržišta tradicionalnih proizvoda. U skladu sa evropskom praksom i Republika Srbija je uložila značajna sredstva u istraživanja vezana za podizanje kapaciteta tradicionalne proizvodnje hrane.

U grupi tradicionalnih prehrambenih proizvoda značajno mesto zauzimaju proizvodi od mesa, a među njima i suve fermentisane kobasice. Njihove fizičko-hemijske i senzorne karakteristike su u velikoj meri određene prirodnim i specifičnim kulturnim i društvenim osobenostima geografskih regiona u kojima se proizvode. Zahvaljujući toj činjenici, u mnogim evropskim zemljama se proizvodi veliki broj vrsta tradicionalnih fermentisanih kobasica, a mnoge od njih nose oznake geografskog porekla PDO (Protected Designation of Origin – zaštićeno ime porekla) ili PGI (Protected Geographical Indication – zaštićena geografska oznaka).

Suve fermentisane kobasice su proizvodi dobijeni od usitnjenog mesa i čvrstog masnog tkiva, a mogu im se dodati kuhinjska so, začini, aditivi i drugi dodaci. Nakon punjenja u prirodne i/ili veštačke omotače konzervišu se postupcima fermentacije i sušenja, sa ili bez dimljenja, a sadržaj vlage u gotovom proizvodu iznosi manje od 35%. Savremeni industrijski način proizvodnje kobasica podrazumeva upotrebu hemijskih aditiva i mikrobioloških, tzv. starter kultura uz pomoć kojih se ubrzavaju i usmeravaju procesi fermentacije, sušenja i zrenja. Na taj način se dobijaju bezbedni proizvodi standardnog kvaliteta ali vrlo jednoličnog, često kiselog ukusa. Nasuprot tome, tradicionalan način proizvodnje kobasica najčešće podrazumeva upotrebu samo kuhinjske soli i začina, a jedinstveni izgled i veoma cenjena aroma potiču od specifičnog načina proizvodnje i aktivnosti autohtonih mikroorganizama karakterističnih za sredinu u kojoj se vrši proizvodnja. Međutim, izrada kobasica na tradicionalan način se može odvijati samo tokom određenog dela godine kada to vremenske prilike dozvoljavaju, a kvalitet proizvoda često varira u zavisnosti od prisutne autohtone mikroflore i spoljašnjih klimatskih faktora, jer se procesi dimljenja,

sušenja i zrenja odvijaju u prostorijama u kojima je mogućnost regulacije procesnih parametara, odnosno temperature, relativne vlažnosti i brzine cirkulacije vazduha, minimalna.

Ovo je slučaj i sa tradicionalnom suvom fermentisanom kobasicom poznatom pod nazivom *Petrovská klobása* (*Petrovačka kobasica*), koja se proizvodi u Bačkom Petrovcu i njegovoj okolini. *Petrovačka kobasica* je deo kulturnog nasleđa Slovaka koji su u drugoj polovini 18. veka naselili pojedine delove Vojvodine, a koji je i danas proizvode na tradicionalan način i prema originalnoj recepturi svojih predaka, bez upotrebe aditiva i starter kultura. U seoskim domaćinstvima ova kobasica se izrađuje tokom zimskih meseci kada je temperatura vazduha oko 0°C ili nešto niža, što uslovljava veoma spore procese fermentacije, sušenja i zrenja (do 120 dana). Zahvaljujući naglašenim, specifičnim i prepoznatljivim senzornim svojstvima *Petrovačka kobasica* je veoma omiljena među potrošačima, te je 2007. godine, nakon višegodišnjih istraživanja, dokazana i ozvaničena uzročno-posledična veza između prirodnih i društvenih osobenosti Opštine Bački Petrovac i jedinstvenih parametara kvaliteta ove kobasice. *Petrovačka kobasica* je zaštićena oznakom geografskog porekla (ime porekla), prema nacionalnom zakonu o oznakama geografskog porekla (Rešenje broj: 9652/06 Γ-03/06, 21. 05. 2007. godine, Zavod za intelektualnu svojinu Republike Srbije).

Osnovni princip konzervisanja tradicionalnih suvih fermentisanih kobasica, pa tako i *Petrovačke kobasice*, zasnovan je na smanjenju aktivnosti vode (*aw*) proizvoda. Ovo sniženje *aw* vrednosti se dominantno postiže izdvajanjem slobodne vode tokom procesa sušenja. Istovremeno sa sušenjem u kobasicama se odvijaju procesi fermentacije i zrenja koji rezultiraju skupom složenih biohemijskih promena, čijim nastankom se sirovi nadev prevodi u jestivi proizvod željenog ukusa, mirisa i teksture. Naime, tokom zrenja najznačajniji proteini mesa (miofibrilarni i sarkoplazmatski) bivaju hidrolizovani, usled čega dolazi do razgradnje miofibrilarne strukture (omekšavanja), te nastanka jedinjenja koja učestvuju u povezivanju nadeva i stvaranju karakteristične arome proizvoda. Dakle, pored fermentacije, procesi sušenja i zrenja jesu najznačajniji procesi koji se odvijaju tokom proizvodnje fermentisanih kobasica jer od njih u najvećoj meri zavisi bezbednost i ukupan kvalitet finalnog proizvoda.

Na osnovu svega navedenog, odlučeno je da se u ovoj doktorskoj disertaciji izuče procesi sušenja i zrenja *Petrovačke kobasice* izrađene u tradicionalnim uslovima seoskog domaćinstva, te da se na osnovu stečenih znanja započne razvoj i implementacija optimalnog modela sušenja i zrenja ove kobasice u kontrolisanim uslovima registrovanog objekta za preradu mesa.

## **2. PREGLED LITERATURE**

### **2.1. TRADICIONALNA HRANA I GEOGRAFSKE INDIKACIJE**

U svim delovima sveta postoji veliki broj različitih kultura koje se odlikuju svojstvenom i vrlo specifičnom tradicionalnom ishranom. Umeće pripreme tradicionalne hrane, koja se konzumira lokalno ili regionalno, se najčešće prenosi usmenim putem sa generacije na generaciju. Uspostavljena tradicija proizvodnje na određenom lokalitetu omogućava izgradnju identiteta i reputacije proizvoda vezane za tu geografsku indikaciju (GI), a njegova posebna svojstva su rezultat uticaja prirodnih (klima, zemljište, voda, lokalne rase životinja i sorte biljaka i dr.) i društvenih (posebna znanja i veštine populacije, tradicionalni alati i oprema i dr.) resursa geografske oblasti u kojoj se odvija proizvodnja (European Commission, 2007a; 2007b; Vandecandelaere i sar., 2009).

Evropa je posebno poznata po raznovrsnosti poljoprivredno-prehrambenih proizvoda koji su rezultat prirodnog okruženja i vekovima razvijane proizvođačke prakse. Tradicionalna hrana i piće predstavljaju veliki deo kulturnog identiteta evropskih naroda i regiona. Međutim, pored činjenice da veza između proizvoda, mesta i ljudi koji ga izrađuju predstavlja značajno kulturno-gastronomsko nasleđe koje je potrebno očuvati, ona u isto vreme čini značajnu tržišnu vrednost obzirom na rastući interes potrošača prema tipičnim proizvodima čiji je kvalitet usko povezan sa geografskim poreklom i tradicijom. Raznovrsnost tradicionalnih proizvoda nudi potrošaču veliki izbor visokokvalitetne hrane, a proizvođačima takvih proizvoda potencijalnu kompetitivnu prednost u odnosu na ostatak „konvencionalne“ prehrambene industrije (European Commission, 2007a; 2007b; Vandecandelaere i sar., 2009).

Geografske indikacije (GI) predstavljaju ključ i jedan od glavnih oslonaca evropske ekonomije u oblasti poljoprivredno-prehrambene proizvodnje. Ovo je prvenstveno uslovljeno činjenicom da geografske indikacije predstavljaju značajan deo izvoza prehrambenih proizvoda Evropske unije, te da proizvođači na osnovu njih ostvaruju dodatnu vrednost proizvoda koja se realizuje kroz više maloprodajne cene i pravedniju raspodelu dobiti u lancu snabdevanja. Takođe, proizvodi sa geografskim indikacijama čine osnovu razvoja prehrambene industrije i neodvojivi deo turističke ponude u ruralnim, zabačenim i ekonomski

nerazvijenim područjima, čijom proizvodnjom i prodajom se ostvaruje značajna ekonomska dobit (European Commission, 2003; 2007a; 2007b; 2010; Talon i sar., 2007).

U nameri da sačuva, zaštiti i promoviše specifične tradicionalne proizvode Evropska unija je još 1992. godine uspostavila sistem oznaka kvaliteta vezanih za geografsku indikaciju (Council Regulation (EEC), 2081/92) i specifičan način proizvodnje, koji je 2006. godine obnovljen i unapređen (Council Regulation (EC), 509/2006; 510/2006), i koji se sastoji od tri nivoa zaštite:

### 1. PDO (Protected Designation of Origin)

- *zaštićeno ime porekla* -

Obuhvata poljoprivredne i prehrambene proizvode koji su proizvedeni i pripremljeni na određenom geografskom području uz korišćenje odgovarajućih znanja i veština.



### 2. PGI (Protected Geographical Indication)

- *zaštićena geografska oznaka* -

Obuhvata poljoprivredne i prehrambene proizvode koji su blisko povezani sa geografskim područjem. Najmanje jedna od faza proizvodnje, prerade ili pripreme se odvija u ovoj oblasti.



### 3. TSG (Traditional Speciality Guaranteed)

- *garantovano tradicionalan specijalitet* -

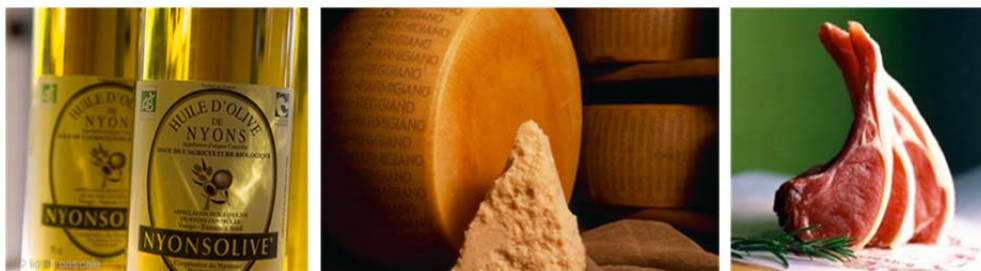
Ističe tradicionalan karakter proizvoda, bilo u sastavu ili procesu proizvodnje.



Navedene oznake jasno diferenciraju proizvode čiji je poseban kvalitet potpuno ili delimično uslovljen činjenicom da dolaze iz tačno definisanih geografskih oblasti (PDO i PGI), te da su proizvedeni na osnovu posebnih znanja i veština lokalnog stanovništva uz korišćenje tradicionalnih sirovina (TSG). Uspostavljeni sistem označavanja omogućava proizvođačima da zaštite način proizvodnje i same proizvode kao intelektualnu svojinu, a

potrošačima pruža određenu vrstu garancije kvaliteta označenog proizvoda. Sistem zaštite oznakama PDO, PGI ili TSG obuhvata sledeće proizvode: meso i proizvodi od mesa, sirevi, voće, povrće, žitarice, riba i drugi plodovi mora, ulje i masti, masline, mineralna voda, pivo i drugi napici od biljnih ekstrakata, hleb, peciva, kolači i dr. (European Commission, 2007b).

U slučaju PDO proizvoda veza između geografske oblasti proizvodnje i specifičnih karakteristika proizvoda je neraskidiva i jasno definisana. Sve faze proizvodnje se odvijaju na ograničenom geografskom području, odakle potiču i sve potrebne sirovine. Svaki proizvod koji potiče sa odgovarajućeg područja podleže rigoroznoj kontroli i mora da ispuni strogo definisane zahteve u pogledu kvaliteta kako bi mogao da nosi zaštićeno ime i PDO znak. Neki poznati primeri proizvoda koji nose PDO oznaku u Evropskoj uniji su: *Huile d'olive de Nyons* (maslinovo ulje iz oblasti oko grada Niona, Francuska), *Parmigiano Reggiano* (sir iz oblasti između Apenina i reke Po – oko gradova Parma, Reggio Emilia i Modena, Italija) i *Shetland lamb* (meso Šetlandskog jagnjeta, Škotska, UK) (Slika 2.1).



Slika 2.1. Poznati evropski proizvodi sa PDO znakom  
(*Huile d'olive de Nyons*, *Parmigiano Reggiano* i *Shetland lamb*)

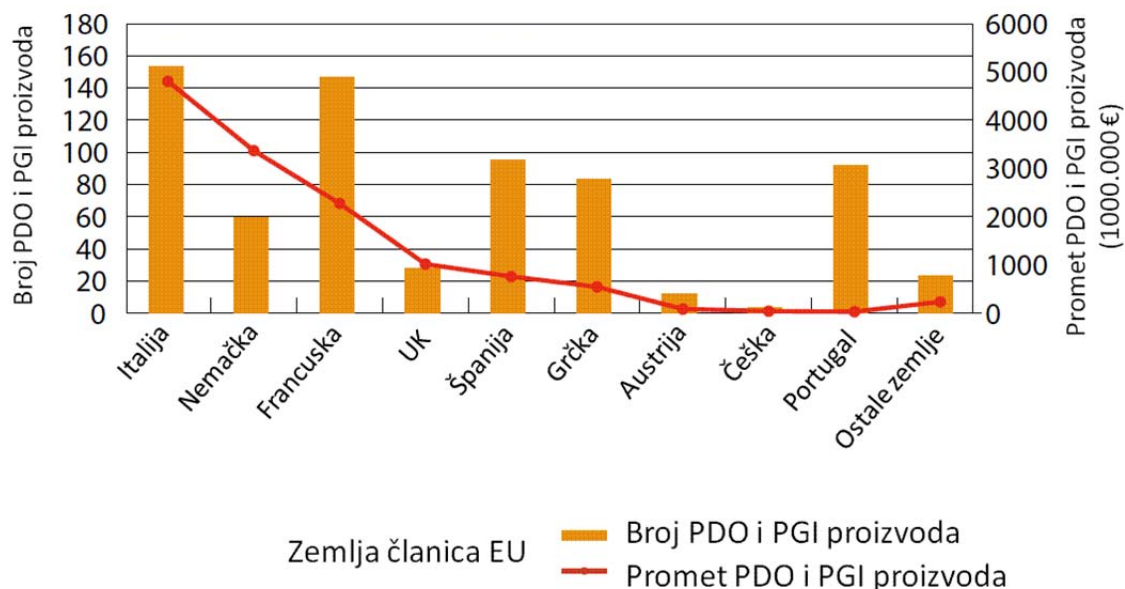
Kada su u pitanju PGI proizvodi veza između specifičnih karakteristika i reputacije proizvoda sa jedne i geografskog područja sa druge strane postoji ali nije toliko izražena kao u slučaju onih koji nose PDO logo. Najmanje jedna faza proizvodnje se mora odvijati u definisanom geografskom području, a kada su u pitanju sirovine one mogu poticati i iz drugih regiona. Neki poznati primeri proizvoda koji nose PGI oznaku u Evropskoj uniji su: *Českobudějovické Pivo* (poznato svetlo pivo iz Čeških budejovica, Češka), *Clare Island Salmon* (meso lososa sa ostrva Clare, Irska) i *Arancia Rossa di Sicilia* (crvene pomorandže sa Sicilije, Italija) (Slika 2.2).





Slika 2.2. Poznati evropski proizvodi sa PGI znakom  
(*Ceskokobudejovické Pivo, Clare Island Salmon, Arancia Rossa di Sicilia*)

Na osnovu istraživanja Evropske komisije vrednost trgovine na veliko PDO i PGI proizvodima u 2007. godini je iznosila 14.2 milijarde eura (Slika 2.3). Takođe, utvrđeno je da je 30% ukupne proizvodnje ovih proizvoda, u iznosu od 700 miliona eura, izvezeno van EU. Ova studija je obuhvatila 820 zaštićenih proizvoda koji su se tada nalazili u Evropskom registru, dok je danas taj broj premašio brojku 1000 i svake godine ima tendenciju porasta, što potvrđuje raznovrsnost kulture i gastronomskog nasleđa evropskih naroda. Svi registrovani PDO, PGI i TSG proizvodi, kao i oni prijavljeni za registraciju, mogu se pronaći u DOOR bazi podataka (<http://ec.europa.eu/agriculture/quality/door/list.html>).



Slika 2.3. Broj registrovanih PDO i PGI proizvoda u zemljama članicama EU i njihov promet u 2007. godini

Najveći broj registrovanih PDO/PGI proizvoda u 2008. godini je imala Italija (165), zatim slede Francuska (156), Španija (110), Portugal (105), Grčka (85), Nemačka (62), UK (29) itd. Međutim, ovaj broj često nije u korelaciji sa finansijskom vrednošću proizvodnje i trgovine PDO/PGI proizvodima, koju ostvaruje neka država članica. Tako na primer Portugal poseduje veliki broj proizvoda u Evropskom registru, ali obzirom na činjenicu da su to većinom proizvodi niske ekonomske vrednosti (voće i povrće) ova država finansijski ostvaruje veoma mali promet u evropskim razmerama. Nasuprot, Nemačka i UK sa relativno malim brojem registrovanih proizvoda ostvaruju preko 30% ukupnog evropskog prometa ovim proizvodima ([http://ec.europa.eu/agriculture/quality/schemes/newsletter-2010\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/agriculture/quality/schemes/newsletter-2010_en.pdf)).

Registrowanje oznake geografskog porekla, te sticanje prava ovlašćenog korisnika ovih oznaka je u našoj zemlji regulisano Zakonom o oznakama geografskog porekla ("Sl. glasnik RS", br. 18/2010). Na osnovu ovog zakona mogu se zaštititi dve vrste oznaka:

1. **Ime porekla** je geografski naziv zemlje, regiona, ili lokaliteta, kojim se označava proizvod koji odatle potiče, čiji su kvalitet i posebna svojstva isključivo ili bitno uslovljeni geografskom sredinom, uključujući prirodne i ljudske faktore i čija se proizvodnja, prerada i priprema u celini odvijaju na određenom ograničenom području.
2. **Geografska oznaka** je oznaka koja identifikuje određeni proizvod kao proizvod poreklom sa teritorije određene zemlje, regiona ili lokaliteta sa te teritorije, gde se određeni kvalitet, reputacija ili druge karakteristike proizvoda suštinski mogu pripisati njegovom geografskom poreklu i čija se proizvodnja i/ili, prerada i/ili priprema odvijaju na određenom ograničenom području.

Spisak svih oznaka geografskog porekla registrovanih u Zavodu za intelektualnu svojinu Republike Srbije kao i sadržaj tehnoloških elaborata (specifikacija proizvoda) na osnovu kojih je izvršena njihova zaštita može se pogledati u bazi podataka Zavoda (<http://www.zis.gov.rs>).



Slika 2.4. Kontrolne markice za proizvode sa kontrolisanim imenom porekla i kontrolisanom geografskom oznakom

Oblik i sadržaj oznake geografskog porekla, kao i način kontrole označavanja poljoprivrednih i prehrambenih proizvoda koji nose neku od oznaka geografskog porekla propisan je odgovarajućim Pravilnikom ("Sl. glasnik RS", br. 92/2012). Ovlašćeni korisnici imena porekla ili geografske oznake imaju isključivo pravo da svoj proizvod sa geografskim poreklom obeležavaju oznakom "kontrolisano ime porekla" ili "kontrolisana geografska oznaka", koje se nalaze na odgovarajućim kontrolnim markicama (Slika 2.4).

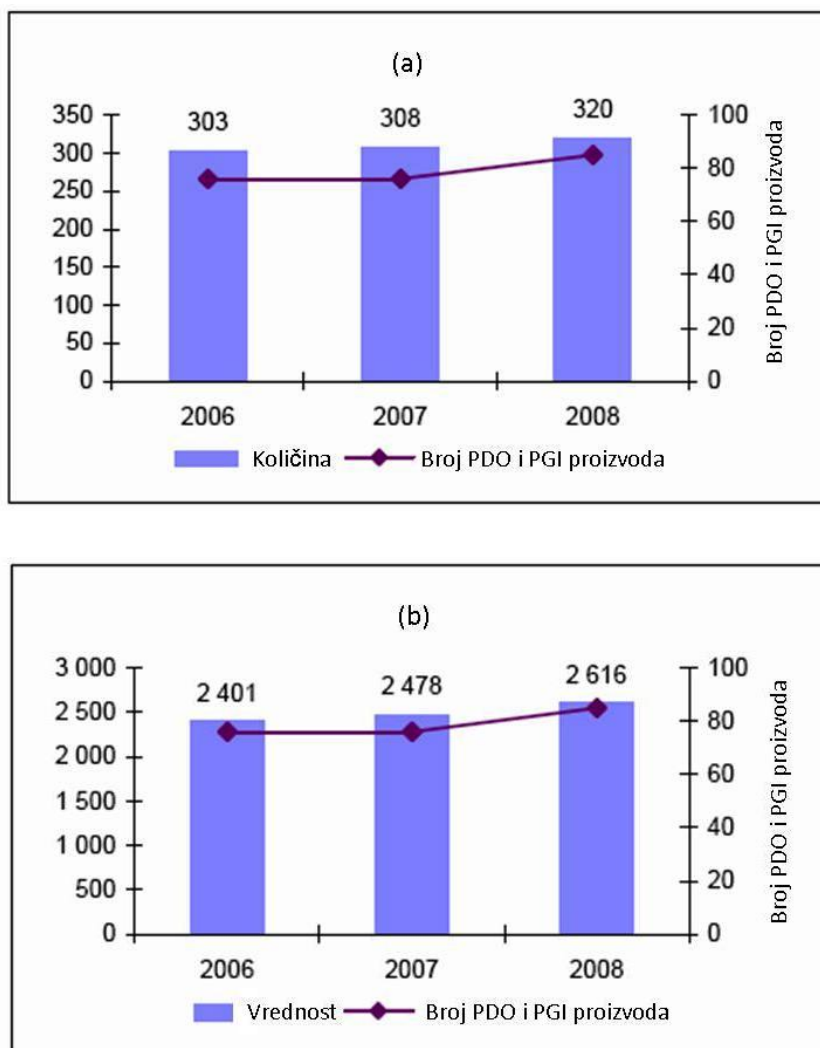
### **2.1.1. TRADICIONALNI PROIZVODI OD MESA**

U prethodnom poglavlju je napomenuto da sve evropske zemlje poseduju dugu tradiciju izrade i konzumiranja specifične hrane. Među ostalim tipičnim prehrambenim proizvodima prisutnim na tržištu značajno mesto zauzimaju tradicionalni proizvodi od mesa koji se odlikuju jedinstvenim karakteristikama i kvalitetom. U Evropskoj uniji je u 2008. godini oznakom geografskog porekla bilo zaštićeno ukupno 85 proizvoda od mesa, od čega 25 kao PDO i 60 kao PGI. Većina registrovanih proizvoda od mesa, odnosno oko 90%, je poreklom iz samo četiri zemlje članice: Italije (29), Portugala (28), Španije (10) i Nemačke (8). Preostalih 10 proizvoda je zaštićeno u Francuskoj (4), Austriji (2), Belgiji (1), Mađarskoj (1), Irskoj (1) i Luksemburgu (1) ([http://ec.europa.eu/agriculture/quality/schemes/product-files/meat-products\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/agriculture/quality/schemes/product-files/meat-products_en.pdf)).

Kao što se na slici 2.5. može videti, tokom tri posmatrane godine značajno je porasla količina, ali i vrednost proizvodnje registrovanih PDO/PGI proizvoda od mesa u EU. Ukupna proizvodnja ovih proizvoda u 2008. godini je iznosila oko 320 kt, dok je vrednost te proizvodnje bila oko 2.600 M€. Oko 90% ukupne proizvodnje, kako u pogledu količine, tako i u pogledu vrednosti ostvarene plasmanom izrađenih GI proizvoda je ostvareno u samo dve zemlje, Italiji i Nemačkoj. Ovaj podatak može biti posledica više kompleksnih faktora, čija analiza prevazilazi okvire ovog rada, ali generalno ukazuje na kvalitet, prepoznatljivost i cenu proizvoda, zatim svest i obaveštenost potrošača, te spremnost i snagu pojedinih država članica da na različite načine pomognu proizvodnju i plasman ovih proizvoda.

Najveći broj zaštićenih proizvoda pripada grupi sušenih proizvoda od mesa s obzirom da su nastali kao potreba čoveka da sačuva meso, odnosno da produži njegovu upotrebnu vrednost, u uslovima kada je sušenje bilo praktično jedini poznat i dostupan način konzervisanja. Fizičko-hemijske i senzorne osobine potiču od upotrebe lokalnih sirovina, specifičnih receptura i tehnika izrade, te prirodnih klimatskih uslova sredine u kojima se

odvijaju procesi sušenja i zrenja (Jordana, 2000; Vuković, 2006; Aquilanti i sar., 2007; Casaburi i sar., 2007; Talon i sar., 2007; Roseiro i sar., 2008).



Slika 2.5. Evolucija proizvodnje PDO/PGI proizvoda u EU od 2006. do 2008. godine: (a) količina (1000 t), (b) vrednost (1 000 000 €)

Proizvodnja različitih tipova sušenih proizvoda od mesa je bila ustaljena praksa još u doba Rimskog carstva na čitavoj njegovoj teritoriji, a u Mediteranskom regionu i mnogo ranije. Umetnost pravljenja suvih fermentisanih kobasica uz korišćenje životinjskih creva kao omotača je preživela pad Rimske Imperije i nastavila da se razvija u srednjem veku, sa razvojem gradova, širom Evrope (Incze, 1998; Savic i Savic, 2004; Comi i sar., 2005; Toldrá i sar., 2007a). Prva ozbiljnija proizvodnja fermentisanih kobasica, kakve poznajemo danas, je započela u Italiji 1730. godine, te se ova zemlja sa pravom smatra kolevkom proizvoda ovog

tipa. Proizvodnja je zatim rasprostranjena do Nemačke, Mađarske i drugih evropskih i vanevropskih zemalja, poput SAD, Argentine i Australije. Premda se značajne količine fermentisanih kobasica izrađuju i konzumiraju na američkom kontinentu, u Aziji i Australiji, Evropa je i dalje lider u proizvodnji i potrošnji ovog tipa proizvoda od mesa (Demeyer, 2004; Talon i sar., 2004; Di Cagno i sar., 2008; Vignolo i sar., 2010).

Generalno, evropski sušeni proizvodi od mesa se prema osobinama i poreklu mogu podeliti u dve osnovne grupe: južnoevropski ili mediteranski tip proizvoda i severnoevropski tip proizvoda (Talon i sar., 2004; Toldrá i Aristoy, 2010).

Kada je u pitanju suva šunka, mediteranski tip proizvoda karakteriše veoma dug period zrenja i odsustvo dimljenja i kuvanja. Najpoznatije suve šunke ovog tipa su: španske *Iberijska* (četiri zaštićene PDO znakom - *Dehesa de Extremadura*, *Guijuelo*, *los Pedroches* i *Jabugo*), *Teruel* (PDO) i *Trévelez* šunka (TSG); francuske *Bayonne* (PGI) i šunka sa Korzike; italijanske *Parma* i *San Daniele* PDO šunke (Slika 2.6). Nasuprot, proizvodnja šunke severnoevropskog tipa traje kraće i često podrazumeva procese dimljenja i kuvanja. Najpoznatiji primeri su: norveške *Fenalâr* i *Spekeskinke* šunke; nemačke *Westphalian* i *Holsteiner Katenschinken* (PGI) šunke; kao i finska „sauna“ šunka (Toldrá, 2004; Toldrá i Aristoy, 2010).



Slika 2.6. Poznate evropske PDO i PGI šunke mediteranskog tipa (*Teruel*, *Bayonne* i *Parma*)

Tipični predstavnici južnoevropskih ili mediteranskih suvih fermentisanih kobasica su: italijanske (*Salamini italiani alla cacciatora*, *Soppresata di Calabria*, *Soppresata of Vallo di Diano*, *Salame Piacentino*, *Salame di Varzi*, *Salame Brianza* i dr.), španske (*Salchichón de Vic*, *Chorizo Riojano*, *Botillo del Bierzo*, *Sobrasada de Mallorca* i dr.), francuske (*Saucisson de l'Ardèche*, *Saucisson d'Alsace*, *Saucisse de Morteau* i dr.) i portugalske (*Salpicão de Vinhais*, *Chourico Grosso de Estremoz e Borba*, *Painho de Portalegre* i dr.) kobasice sa PDO ili PGI znakom. Nasuprot mediteranskim kobasicama, u proizvodnji severnoevropskih se pored svinjskog mesa često koristi i goveđe. Postupak dimljenja takođe predstavlja

specifikum ovih proizvoda čiji tipični predstavnici su: nemačke PDO kobasice (*Greußener Salami* i *Göttinger Stracke*), mađarska (*Szegedi téliszalámi*) i druge kobasice koje se proizvode u Nordijskim zemljama (danska *Spegepølse*, švedska *Medwurst*, norveške *Morr*, *Kotimainen* i *Venäläinen*) (Slika 2.7) (Di Cagno i sar., 2008; Roseiro i sar., 2008; 2010; Talon i sar., 2004; Toldrá i sar., 2007a; Vignolo i sar., 2010).



Slika 2.7. Poznate evropske PDO i PGI suve fermentisane kobasice (*Salame Piacentino*, *Salame di Varzi*, *Salchichón de Vic*, *Szegedi téliszalámi*)

U Zavodu za intelektualnu svojinu Republike Srbije do danas je registrovano 43 domaće oznake geografskog porkla, a 10 su proizvodi od mesa. Nažalost, za većinu ovih oznaka ne postoje ovlašćeni korisnici, kako zbog gašenja i/ili promene vlasničkih odnosa u preduzećima koja su inicirala zaštitu određenih proizvoda, tako i zbog nemogućnosti registrovanja malih porodičnih proizvodnji tradicionalnih proizvoda od mesa, odnosno nepostojanja odgovarajućih zakonskih i podzakonskih akata kojima bi se regulisala ova oblast. Međutim, i pored činjenice da ove oznake proizvoda u praksi ne žive, odnosno da legitimni proizvođači na osnovu njih ne mogu da ostvare korist i da se zaštite od nelojalne konkurencije, srpski tradicionalni proizvodi od mesa su veoma prepoznatljivi, rasprostranjeni i proizvode se u značajnim količinama. Najpoznatiji među njima su sušeni fermentisani proizvodi kao što su: *Sremski kulen*, *Sremska kobasica*, *Sremska šunka*, *Petrovačka kobasica*, *Sjenički sudžuk*, *Pirotska peglana kobasica*, *Užička pršuta*, *Užička slanina* i dr. (Tojagić i sar., 1997; Vuković, 2006; Petrović i sar., 2007; Vesković-Moračanin, 2009; Ikonić i sar., 2010; Vuković i sar., 2011a; 2011b; Tasić i sar., 2012).

## 2.2. SUVI FERMENTISANI PROIZVODI OD MESA: ISTORIJA I PRINCIPI PROIZVODNJE

### 2.2.1. SUŠENJE MESA KROZ ISTORIJU

Sušenje najverovatnije predstavlja najstariji metod konzervisanja hrane, te se često kaže da je ovaj postupak star koliko i sam čovek. Konzervisanje namirnica na ovaj način je omogućilo dalekim čovekovim precima da opstanu u vreme nedostatka hrane i da postanu nezavisni od izvora hrane tokom perioda velikih migracija. Ono je bilo i još uvek je široko rasprostranjena praksa američkih plemena, mnogo pre Kolumba, starih Eskima, mediteranskih, orijentalnih i afričkih kultura. Najstariji postupci sušenja namirnica zasnivali su se na korišćenju energije sunca i vetra, a ovaj način dehidratacije hrane se i danas koristi u različitim delovima sveta (Vereš, 1991; Andrés i sar., 2007; Zukál i Incze, 2010).

Na osnovu fosilnih ostataka i crteža na zidovima pećina pouzdano se može reći da je čovek postupak sušenja namirnica radi produženja njihove upotrebne vrednosti počeo da koristi oko 20 000 godina pre nove ere (p.n.e.) (Babić i Babić, 2000). Međutim, na osnovu nekih indirektnih dokaza zaključuje se da je još primitivni čovek, *Homo erectus* (1,6 – 1,1 milion godina p.n.e.), shvatio da je sveže meso ulovljenih životinja veoma kvarljivo i samim tim nepodesno za kasniju upotrebu, te je otkrio da sušenje pozitivno utiče na njegovu održivost (Savić i Savić, 2004).



Slika 2.8. Primitivni čovek je sušio meso ulovljenih životinja (Savić i Savić, 2004)

Tokom Kamenog doba egzistencija praistorijskog čoveka je uglavnom zavisila od lova i mogućnosti da sakupi hranu u prirodi. Nakon uspešnog lova meso je bilo više nego što je potrebno. Kako je meso koje nije bilo odmah konzumirano vrlo brzo postajalo neupotrebljivo čovek je iznova morao da kreće u lov. To ga je nateralo da razmišlja o načinima da meso učini duže jestivim, odnosno da sebi obezbedi manje ili više stabilne zalihe hrane. Nakon otkrića vatre primitivni čovek je počeo da peče, dimi i suši meso. Konzervisanje mesa i

poznavanje potrebnih procesa postalo je bitan faktor opstanka. Pećine i prirodna skloništa su bila dobra mesta za sušenje mesa. Nakon rasecanja trupova i sečenja na sitnije komade meso je mešano sa travama i raličitim semenkama, a potom je kuvano ili dimljeno i sušeno. Tako pripremljeno meso je oblagano masnim tkivom i lišćem ili je punjeno u creva životinja i predstavljalo je prvi tip prizvoda od mesa sličan kobasicama (Cassens, 1994; Baldini i sar., 2000; Savić i Savić, 2004; Zukál i Incze, 2010).

Tragovi sušenja mesa koji datiraju iz Starog kamenog doba (20 000 - 10 000 godina p.n.e.) pronađeni su oko reke Don. Tamošnji ljudi su sekli meso u tanke trake i sušili ih na suncu. Takođe, u oblasti današnje južne Francuske, 10 000 godina p.n.e., prvi put je sušena riba (Babić i Babić, 2000).

U vreme četvrte dinastije Starog Kraljevstva (2 600 - 2 052 p.n.e.) zlatnog doba umetnosti i arhitekture, drevni Egipćani su izgradili piramide i druge spomenike. To je bio period velikog ekonomskog rasta. U potrazi za novim tržištima trgovci su prevaljivali velike razdaljine u karavanima koji su nudili sveže meso i proizvode. Mumificirane životinje: bikovi, mačke, psi, babuni, ukazuju na to da su stari Egipćani poznavali sušenje i druge postupke konzervisanja mesa (Savić i Savić, 2004).

Tehnike dimljenja, soljenja i sušenja mesa bile su zastupljene u antičkoj Grčkoj mnogo pre Homerovog vremena (1000 godina p.n.e.). Sam Homer, nešto kasnije (oko 800–700 p.n.e) u svojoj Odisei spominje kobasice, dok Atinski pisac komedija Aristofan (445-386 p.n.e.) u drami "Vitezovi" gradi portret proizvođača kobasica koji se na sceni pojavljuje sa posudom punom ovog proizvoda. Proizvodnja kobasica je dakle bila veoma zastupljena. One su se proizvodile od usitnjenog i usoljenog svinjskog i magarećeg mesa, masti i krvi. Još jedan dokaz da su se suve fermentisane kobasice proizvodile u Antičkoj Grčkoj predstavlja njihov uobičajen naziv „salama“, koji najverovatnije potiče od imena grčkog grada Salamis, na istočnoj obali Kipra. Iako je grad uništen 450. godine p.n.e. naziv je do tada već bio u širokoj upotrebi, te se zadržao do danas (Savić i Savić, 2004; Zeuthen, 2007).

U zapisima drevne kineske civilizacije prvi put se spominje proizvodnja suve šunke. Leistner (1986) (prema Zeuthen-u, 2007), navodi da su i Severna i Južna kineska dinastija (589–420 p.n.e.) proizvodile poseban tip kobasice pod nazivom *Lup Cheong*, izrađen od jelenskog i jagnječeg mesa. Iako su mnogi ovu kobasicu smatrali kiselom njena velika održivost je najverovatnije i proizilazila iz velikog sadržaja laktobacila koji su tokom sušenja fermentisali ugljene hidrate do mlečne kiseline.



Cato u svojoj knjizi „De agricultura“ (1979) (prema Zeuthen-u, 2007) daje detaljan opis proizvodnje i čuvanja suve šunke oko 200. godine p.n.e. Leistner (1986) prema Zeuthen-u, 2007) navodi da je antički pisac Varo, koji je živeo u prvom veku pre nove ere, zabeležio da je Rim ostvarivao značajan uvoz suve šunke, kobasica i drugih proizvoda od mesa iz oblasti koju su držali Gali. Takođe, poznato je da je Rimski imperator Dioklecijan 301. godine u javnoj belešci razlikovao jako dimljenu i salamurenu šunku od one koja je manje osoljena i sušena bez dima. Rimljani su takođe proizvodili i suve fermentisane kobasice tako što su u iseckano meso dodavali so i začine, te dobijenu mešavinu punili u životinjske kože i sušili u specijalnim prostorijama (Zeuthen, 2007).

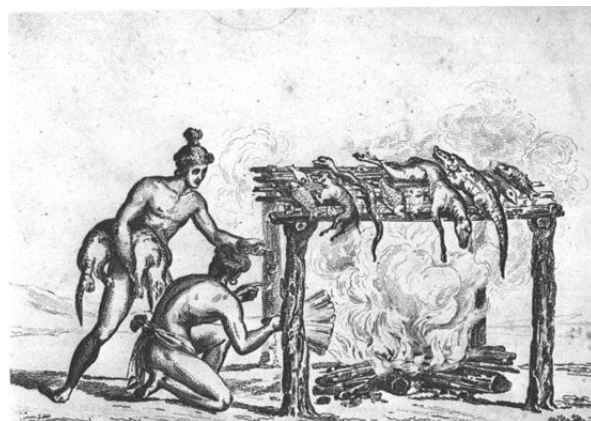
Tokom osmog veka u Japanu je sušena raznovrsna hrana kako biljnog, tako i životinjskog porekla, pa se čak proizvodilo i koncentrovano mleko. Morski plodovi su sušeni u većini regiona u kojima su ljudi živeli od mora. To potvrđuju i zapisi koji su nađeni na tlu savremene Norveške gde se i danas riba tradicionalno suši na suncu i vetru, a ribarenje je važna privredna grana (Vereš, 1991; Babić i Babić, 2000)



Slika 2.9. Sušenje ribe korišćenjem energije sunca i vetra

Tokom srednjeg veka veliki ratnički pohodi su doveli do mešanja različitih kultura i običaja, te su se i saznanja na planu konzervisanja hrane brže prenosila. Iznalazili su se novi načini za očuvanje kvaliteta hrane jer je veliki broj vojnika trebalo prehraniti tokom dužeg vremenskog perioda. Kada su Mongolska plemena tokom 13. veka pokorila Orijent i Evropu, širom starog kontinenta bila je raširena praksa proizvodnje kobasica. Džingis Kanove trupe su ove sušene proizvode od mesa vrlo brzo uvrstile u svoj jelovnik (Babić i Babić, 2000; Savić i Savić, 2004).

Na drugom kraju sveta, starosedeoci severnoameričkog kontinenta iz plemena Timucua, koji su živeli na teritoriji današnje Floride, su u 16. veku dimili i sušili meso na specijalno konstruisanim drvenim stalcima ispod kojih je ložena vatra. O tome svedoči slika francuskog umetnika Jacques le Moyne-a iz 1562. godine (Slika 2.10.).



Slika 2.10. Pripadnici plemena Timucua dime i suše meso ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org))

Kako navode zapisi iz 18. veka obaveznu opremu doseljenika u Ameriku pored naoružanja činila su i pakovanja suvog mesa. Devetnaesti vek nije doneo značajnije pomake na planu tehnologije sušenja hrane. Postupci su se zasnivali na empirijskim saznanjima, koja su se prenosila sa generacije na generaciju. U Nemačkoj tek tada započinje izrada sušenih fermentisanih kobasica, dok u Mađarskoj italijanski majstori između 1830. i 1840. razvijaju proizvodnju čuvene salame. Takođe, postoje podaci da je vojnicima tokom ratova iz tog vremenskog perioda servirana dehidrirana hrana. Tako su trupe Severa jele sušeno meso tokom Američkog građanskog rata 1861. godine (Babić i Babić, 2000; Zeuthen, 2007).

Tokom 20. veka dešava se veliki napredak kako u pogledu naučnih saznanja, tako i tehničkih rešenja u procesu sušenja hrane. Ova pojava je rezultat velikih ratova koji su se vodili i samim tim velikih potreba za hranom. U to vreme samo je sušena hrana posedovala željeni kvalitet i održivost te su ogromna sredstva ulagana u istraživanje i razvoj različite opreme za dehidrataciju hrane. U periodu od 1914. do 1918. godine meso je prvi put sušeno pod strogo kontrolisanim uslovima (Babić i Babić, 2000).

Nakon Drugog svetskog rata, i pored trenutnog smanjenja potreba za dehidriranom hranom, nastavlja se sa razvojem tehnologije i opreme za sušenje mesa. Veliki rast svetske populacije, razvoj saobraćaja i ogromno svetsko tržište tražilo je sve veće količine sušenih fermentisanih proizvoda od mesa, te je ova oblast industrije mesa doživela veliki procvat.

## 2.2.2. TEORIJSKE OSNOVE PROCESA SUŠENJA HRANE

### 2.2.2.1. VLAŽNOST MATERIJALA

Masa vlažnog materijala prehrambenih proizvoda ( $m$ ) određena je zbirom masa njegovih osnovnih sastojaka, odnosno masom suve materije ( $m_{sm}$ ) i masom vlage ( $m_v$ ):

$$m = m_{sm} + m_v \quad (\text{kg}) \quad (1)$$

*Vlažnost materijala* ( $W$ ) je određena relativnim udjelom mase vlage u ukupnoj masi vlažnog materijala (vlažna baza) (Valent, 2001):

$$W = \frac{\text{masa vlage}}{\text{masa vlažnog materijala}} = \frac{m_v}{m} = \frac{m_v}{m_v + m_{sm}} \left( \frac{\text{kg}}{\text{kg}} \right) \quad (2)$$

*Vlažnost* se može izraziti i u procentima (Babić i Babić, 2000):

$$W = \frac{m_v}{m} \cdot 100 \quad (\%)$$

Kako se tokom sušenja vlažnog materijala stalno menja njegoa masa, a time i njegoa vlažnost ( $W$ ), pri analitičkom opisivanju osobina vlažnog materijala češće se koristi veličina koja se naziva *sadržaj vlage* ( $W_s$ ) ili *vlažnost* izražena na suhu materiju (suvu baza), koja se izražava kao relativan udeo mase vlage ( $m_v$ ) u odnosu na masu suve materije ( $m_{sm}$ ) (Valent, 2001):

$$W_s = \frac{\text{masa vlage}}{\text{masa suvog materijala}} = \frac{m_v}{m_{sm}} \left( \frac{\text{kg}}{\text{kg}} \right) \quad (3)$$

*Sadržaj vlage* se takođe može izraziti u procentima (Babić i Babić, 2000):

$$W_s = \frac{m_v}{m_{sm}} \cdot 100 \quad (\%)$$

Između *vlažnosti* ( $W$ ) i *sadržaja vlage* ( $W_s$ ) u vlažnom materijalu postoje zavisnosti proistekle iz prethodno navedenih jednačina. Međusobne veze ovih veličina glase (Valent, 2001):

- *vlažnost* materijala izražena *sadržajem vlage* u materijalu

$$W = \frac{W_s}{W_s + 1}$$

- *sadržaj vlage* u materijalu izražen *vlažnošću* materijala

$$W_s = \frac{W}{1 - W}$$

Tokom sušenja masa vlažnog materijala se smanjuje za iznos isparene vlage ( $\Delta m_v$ ). Masa isparene vlage se određuje iz promene *sadržaja vlage* u materijalu pre ( $W_{s,0}$ ) i posle sušenja ( $W_{s,1}$ ), gde je  $W_{s,1} < W_{s,0}$ . Dakle, između mase vlažnog materijala ( $m_0$ ), mase isparene vlage ( $\Delta m_v$ ), mase osušenog materijala ( $m_1$ ), *vlažnosti* ( $W$ ) i *sadržaja vlage* ( $W_s$ ) u materijalu moguće je uspostaviti sledeće zavisnosti (Valent, 2001):

- masa isparene vlage

$$\Delta m_v = m_0 - m_1 = m_1 \frac{W_{s,0} - W_{s,1}}{1 + W_{s,1}} = m_0 \left( 1 - \frac{1 - W_0}{1 - W_1} \right) \quad (4)$$

- masa vlažnog materijala na početku procesa

$$m_0 = \Delta m_v \frac{1 + W_{s,1}}{W_{s,0} - W_{s,1}} = m_1 \frac{1 - W_1}{1 - W_0} \quad (5)$$

- masa osušenog materijala

$$m_1 = m_0 \frac{1 + W_{s,1}}{1 + W_{s,0}} = \Delta m_v \frac{1 - W_0}{W_0 - W_1} \quad (6)$$

### Oblici vezivanja vode u vlažnom materijalu

S obzirom na fizičku građu i strukturu materijala prehrambenih proizvoda vlaga može biti prisutna u njemu na različitim mestima. Ona se za strukturu materijala vezuje različitom vrstom i intenzitetom veze. Tokom sušenja voda isparava kako sa površine tako i iz unutrašnjosti vlažnog materijala. S obzirom na fizičke i hemijske osobine molekula vode kao i fizičke i hemijske karakteristike materijala, mehanizam sušenja je određen oblikom veze vode sa materijalom i nametnutim režimom sušenja. Pri tome se kao jedan od ključnih faktora isparavanja vlage javlja energija veze molekula vode i materijala (Valent, 2001).

Voda se u namirnicama nalazi u dva oblika i to u slobodnom i vezanom stanju. Slobodnom vodom se naziva deo ukupne vode koja se ponaša kao rastvarač i čiji napon pare je skoro jednak naponu pare „čiste“ vode. Aktivnost ove vode praktično je jednaka jedinici. Međutim, deo slobodne vode je u namirnicama poput mesa imobilisan (*imobilisana voda*) slabim elektrostatskim silama, poprečnim vezama između lanaca proteina ali i međusobnim povezivanjem molekula vode vodoničnim vezama, te ima manju sposobnost rastvaranja i delimično ograničenu pokretljivost molekula. Nasuprot, vezana voda je fizičko-hemijskim vezama spojena za komponente suve materije ili su molekuli ove vode međusobno povezani te nema mogućnosti da se ponaša kao rastvarač (Vereš, 1991; Rede i Petrović, 1997; Puolanne i Halonen, 2010).

U odnosu na način vezivanja za strukturne elemente materijala poroznih i kapilarnih tela, kakva su i prehrambeni proizvodi, razlikuju se četiri forme vezane vode (Vereš, 1991; Valent, 2001):

1. *Hemijski vezana voda* - usled polarnosti molekuli vode su preko hidroksilnih grupa vezani jonskim vezama za komponente suve materije. Zbog jačine veze može se smatrati da ova voda ulazi u hemijski sastav namirnice i ne može se ukloniti uobičajenim postupcima sušenja.
2. *Adsorpciono vezana voda* je fizičko-hemijskim silama vezana za strukturne elemente, koji čine površine kapilara i pora unutar prehrambenih proizvoda, obrazujući monomolekularne ili polimolekularne slojeve. U ovako vezanu vodu ubraja se i jakim koloidno-molekularnim silama adsorbovana voda na površini koloidnih čestica. Koloidno vezana voda ulazi u sastav solvacionog sloja hidrofilnih koloida (proteini, škrob, pektin i dr.) i čini oko 10% ukupne količine vode u namirnici. Ovaj deo vode je vezan silama slabijeg intenziteta u odnosu na hemijski vezanu vodu.
3. *Osmotski vezana voda* se javlja samo kod materijala čiji strukturni elementi poseduje osobine polupropustljivih membrana (semipermeabilnost). To je slučaj sa namirnicama koje su izgrađene od ćelija čija opna je polupropustljiva. Kada je koncentracija rastvorene supstance u ćeliji veća od koncentracije izvan nje voda iz okolne sredine difunduje u unutrašnjost ćelije. To praktično znači da je ona osmotski vezana i omogućuje pojavu osmotskog pritiska. Energija veze osmotski vezane vode znatno je manja od energije adsorpciono vezane vode.
4. *Kapilarno vezana voda* je polimolekulski sloj vode, u obliku vodene pare, fizičko-mehaničkim silama vezan za površine zidova kapilara. U zavisnosti od dimenzija prečnika

kapilara ova voda se razlikuje po svom ponašanju. Kod makrokapilara ( $r > 10^{-7}$ ) mali deo od ukupne mase vode je kapilarnim silama vezan za strukturne elemente materijala, te je utvrđeno da se napon vodene pare iznad tela sa kapilarama istog ili većeg poluprečnika ne razlikuje od napona pare iznad slobodne vode. Fizičko-mehanička veza vode sa strukturnim elementima vlažnog materijala je najmanjeg intenziteta

### Ravnotežna vlažnost materijala

Za vlažan materijal moguće je ustanoviti vezu između iznosa parcijalnih pritisaka vodene pare na površini materijala i okolnog vlažnog vazduha (poznatog pritiska, temperature i relativne vlažnosti). Ako je materijal izložen dejstvu atmosferskog vazduha tokom vremena uspostaviće se dinamička ravnoteža između ta dva učesnika procesa. Za uspostavljeno termodinamičko ravnotežno stanje odnos parcijalnih pritisaka biće jednak relativnoj vlažnosti tog vazduha:

$$(p_v)_{higro} / (p_v^z)_{slobodna\ tečnost} = p_{H_2O}(T) / p_{H_2O}^z(T) = \varphi \quad (7)$$

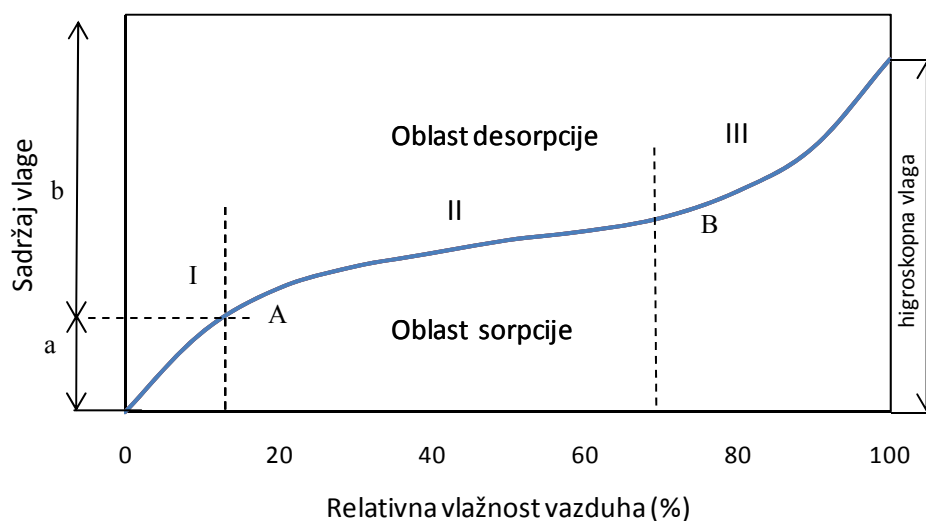
gde je  $(p_v)_{higro}$  parcijalni pritisak vodene pare u higroskopnom telu, a  $(p_v^z)_{slobodna\ tečnost}$  parcijalni pritisak suvozasicene vodene pare pri isparavanju vode sa slobodne površine tečnosti (Valent, 2001).

Kada se pri konstantnoj temperaturi sporo menja napon vodene pare iznad namirnice menjaće se i sadržaj vlage u namirnici u skladu sa odvijanjem procesa sorpcije ili desorpcije. Kriva koja predstavlja zavisnost sadržaja vlage u namirnici od relativne vlage okolnog vazduha naziva se sorpciona (adsorpciona) izoterma. Ona počinje nulom, što odgovara apsolutno suvom proizvodu, a završava se vrednošću relativne vlažnosti vazduha od 100%, što odgovara maksimalno mogućem sadržaju vlage u namirnici (slika 2.11) (Vereš, 1991).

Kako se na slici 2.11. može uočiti izoterma je tačkama A i B podeljena na tri oblasti. Oblast I predstavlja monomolekularni sloj (monosloj = monolayer), praktično vezane vlage koja se uobičajenim sušenjem ne odstranjuje i koja ne učestvuje u bilo kakvim reakcijama (a). Voda koja uslovljava vlažnost u oblasti II je „labavo“ vezana, odnosno predstavlja polimolekulski sloj (multilayer) vode – usled polarnosti molekula vode – slabim silama vezane za monosloj. U oblasti III voda se nalazi u makrokapilarama i relativno lako može da učestvuje u raznim reakcijama (ima osobine vode u pravom smislu reči). Dakle, voda iz oblasti II i III (b) može da se odstrani sušenjem. Granica između oblasti II i III predstavljena je tačkom B i odnosi se na ravnotežnu vlažnost materijala koja uslovljava aktivnost vode između 0,6 i 0,75. To je uobičajena granica do koje se većina namirnica suši (Vereš, 1991).

Usled složenosti građe i prirode proteina mesa (o čemu će kasnije biti više reči), oko 4% ukupne količine vode prisutne u mišiću (70 – 75%) je veoma čvrsto vezano za hidrofilne-polarne grupe na lancima proteina, u monomolekularnom sloju. Sledećih 4 – 6% vode je najverovatnije multimolekularnom adsorpcijom vezano za iste grupe, nešto slabijim vezama u drugom sloju. Čvrsto vezana voda za proteine mesa u mono- i multimolekularnom sloju označava se još i kao prava hidrataciona voda. Labavo vezane vode u mišiću ima oko 10%. Ta voda se zadržava uz proteine mesa u vidu „rešetkaste strukture“, čije nastajanje indukuju nepolarne grupe proteina mišića. CH grupe nepolarnih aminokiselina utiču na molekule vode tako što dovode do uspostavljanja poretka među njima, pa se molekuli vode na površini proteina uređuju tako da formiraju rešetkaste strukture koje dopiru u dubinu tečnosti od više stotina molekula (Hamm, 1972; Rede i Petrović, 1997).

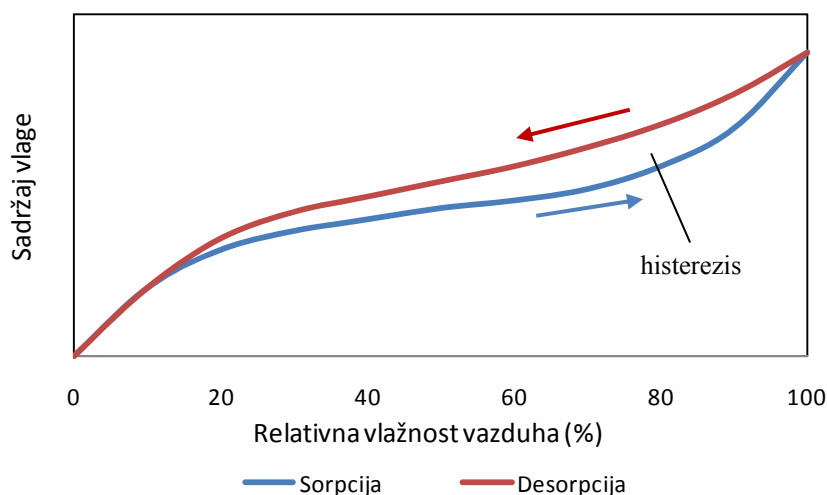
Između labavo vezane vode i tzv. imobilizirane vode ne može se povući oštra granica, jer imobilizirana voda može imati potpunu ili nešto manju slobodu kretanja (mehanički je imobilizirana u prostorima između miofibrila, naročito pre *rigor mortis*-a), te je pod određenim uslovima moguć prelaz iz jednog stanja vode u drugo. Kako imobilizirana i potpuno slobodna voda čine oko 80% vode u mesu, jasno je da je zbog složenosti građe mišićnog tkiva, sorpciona izoterma mesa nešto drugačija od one predočene na slici 2.11. (Hamm, 1972; Comaposada, 1999). Iz tog razloga, finalna vlažnost koja se postiže pri sušenju suvomesnatih proizvoda i fermentisanih kobasica je najčešće u rasponu aktivnosti vode od 0,8 – 0,9 (Vuković, 2006). Snižavanje aktivnosti vode ispod vrednosti 0,8 iziskuje oštrije uslove sušenja (viša temperatura i niža relativna vlažnost vazduha), što uslovljava niži tehnološki i senzorni kvalitet sušenih proizvoda od mesa.



Slika 2.11. Hipotetička sorpciona izoterma

Sorpciona izoterma može da se formira tako što se prati proces sorpcije (adsorpcija), tj. upijanje vlage ili da se meri suprotan proces desorpcije, odnosno isušivanje. Kao što se na slici 2.12. vidi, izuzimajući područja u kojima je relativna vlažnost vazduha približno 0 i približno 100, izoterma sorpcije ne poklapa se sa izotermom desorpcije. Za datu temperaturu vazduha, između krivih sorpcije i desorpcije nalazi se površ histereziisa. Nepoklapanje izoterma sorpcije i desorpcije je posledica složenih, i različitih, procesa vezivanja molekula gasovite faze vode za strukturne elemente čvrstog vlažnog materijala, kao i njenog preobražavanja u tečnu fazu u porama materijala. Složenost ove pojave proizilazi iz obrazovanja monomolekularnog ili polimolekularnog sloja vlage po unutrašnjosti pora, prisustva površinskog napona tečnosti, različitosti strukture, veličine, prečnika i oblika pora. U odnosu na izotermu sorpcije, izoterma desorpcije, odgovara manja relativna vlažnost vazduha za odabrani ravnotežni sadržaj vlage (Valent, 2001).

U stanju termodinamičke ravnoteže posmatrani materijal ima potpuno određenu vlažnost, konstantnu po celoj zapremini, a koja se naziva ravnotežna vlažnost. Smatra se da je vrednost ravnotežne vlažnosti dobijene desorpcijom verodostojnija i realnija (Vereš, 1991; Valent, 2001).



Slika 2.12. Krive izoterma sorpcije i desorpcije

Za svaku temperaturu se formira posebna izoterma. Poznavanjem izoterme jednog materijala na određenoj temperaturi može da se izračuna sadržaj vlage na nekoj drugoj temperaturi. Generalno posmatrajući, sa porastom temperature skladištenja pri istoj relativnoj vlazi vazduha smanjuje se sadržaj vlage u namirnici. S obzirom da sorpciona izoterma predstavlja zavisnost ravnotežne vlage namirnice i relativne vlažnosti okolnog vazduha ona u



praksi može višestruko da posluži za definisanje: granice sušenja namirnice, promene sadržaja vlage namirnice pod određenim uslovima temperature i vlažnosti vazduha, materijala za pakovanje i uslova skladištenja koji će sprečiti mikrobiološko kvarenje (Vereš, 1991).

#### 2.2.2.2. VEŠTAČKI POSTUPCI SUŠENJA HRANE

Sušenje ili dehidratacija, kao postupak konzervisanja hrane, je definisan kao primena toplote u kontrolisanim uslovima radi uklanjanja većine prisutne vlage isparavanjem. Osnovni cilj sušenja je veća održivost hrane, postignuta smanjenjem aktivnosti vode ( $a_w$ ), odnosno smanjenjem sadržaja slobodne vode dostupne mikroorganizmima, čime se inhibira njihov rast i razvoj. Sušenjem se postižu i drugi pozitivni efekti, kao što je smanjenje troškova transporta i skladištenja prehrambenih proizvoda usled smanjenja zapremine i mase proizvoda (Fellows, 2000; Andrés i sar., 2007).

##### Metode termičkog sušenja

Prisutna tečna, gasovita ili čvrsta faza vlage može se uklanjati iz vlažnog materijala na različite načine. Najopštija podela metoda termičkog sušenja razlikuje sledeće postupke (Vereš, 1991; Valent, 2001; Andrés i sar., 2007):

- konvektivno sušenje,
- konduktivno (kontaktno) sušenje,
- sublimaciono sušenje ili sušenje liofilizacijom,
- termoradijaciono sušenje (zračenjem) i
- dielektrično (visokofrekventno) sušenje.

*Konvektivno sušenje* je postupak sušenja vlažnog materijala posredstvom zagrejanog gasovitog agensa (vazduha). Strujanjem agensa duž, oko ili kroz vlažan materijal obezbeđuje se saopštavanje energije vlažnom telu prelaženjem (konvekcijom) toplote. Na račun te energije voda isparava, a zatim se isparena vodena para prenosi u agens za sušenje. Dakle, gasoviti agens je kako nosilac potrebne energije za faznu transformaciju vlage tako i primalac isparene vode.

*Konduktivno (kontaktno) sušenje* materijala podrazumeva proces pri kojem se vlažnom materijalu potrebna energija za isparavanje vlage dovodi u direktnom kontaktu sa toplom, grejnom površinom provođenjem (kondukcijom) toplote. Na taj način dolazi do isparavanja vode, a zatim i prenošenja nastale pare u okolnu sredinu koja je samo primalac vlage.

*Sublimaciono sušenje (sušenje liofilizacijom)* je postupak u kojem se vlažan materijal zajedno sa prisutnom vodom prvo prevodi u čvrsto agregatno stanje (smrzava se), a zatim se iz takvog stanja materijala postupkom sublimacije (pod vakuumom) uklanja vlaga u vidu vodene pare. Okolna sredina je samo primalac vlage. Sa aspekta kvaliteta, ovo je najbolji način dehidracije (nema nepoželjnih senzornih promena, sposobnost rehidracije je veoma velika itd.) ali je za sada ekonomski neprihvatljiv za većinu namirnica.

*Termoradijaciono sušenje (zračenjem)* je postupak u kojem se sušenje materijala odvija na račun energije elektromagnetnog zračenja. Apsorbovana energija služi za zagrevanje i isparavanje vode, a okolna sredina je primalac.

*Dielektrično (visokofrekventno) sušenje* nastaje kao posledica povećanja unutrašnje energije vlažnog tela pod dejstvom električnog polja visoke frekvencije. Dejstvom tog polja obrazuju se dipolni momenti prisutne vode. Korišćenjem naizmenečne struje dolazi do velikog broja preorijentacija električnog polja, a time i do preorijentacije dipola. To dovodi do trenja između dipola vode, te zagrevanja tela i isparavanja vlage u okolnu sredinu.

Sve pomenute metode sušenja zahtevaju određeni iznos energije za isparavanje vlage i označavaju se kao postupci *termičkog sušenja* vlažnog materijala. Uopšteno se može reći da termičko sušenje materijala predstavljaju sledeći procesi (Valent, 2001):

- prevođenje vode u gasovitu fazu pod dejstvom dovedene energije,
- odvođenje nastale gasovite faze vode iz vlažnog materijala i prenošenje te faze vode, sa njegove površine, u okolnu sredinu.

U prehrambenoj industriji dominantno se koristi konvektivni način sušenja nezasićenim vlažnim vazduhom te će u narednom poglavlju ovoj vrsti termičkog sušenja biti posvećena odgovarajuća pažnja.

### **Konvektivno sušenje hrane**

Sušenje vlažnog materijala obavlja se nezasićenim vlažnim vazduhom u kojem se tokom operacije termičkog sušenja menja iznos mase prisutne vodene pare. Istovremeno masa suvog vazduha je nepromenljiva veličina takve smeše (Valent, 2001).

Mehanizam konvektivnog načina sušenja hrane vlažnim vazduhom principijelno se može objasniti preko dve osnovne pojave (Babić i Babić, 2000):

- transport toplote i mase vlage u unutrašnjosti vlažnog materijala i
- transport toplote i mase vlage sa granične površine materijala i radnog medijuma (vazduha).

**Transport toplote i mase vlage u unutrašnjosti vlažnog materijala**

Količina toplote koja sa toplog vazduha prelazi na graničnu površinu materijala dalje se provođenjem prenosi ka unutrašnjosti materijala kao rezultat spontane težnje ka uspostavljanju termičke ravnoteže. Ovo provođenje toplote opisuje Furijeov zakon koji glasi (Çengel, 1998; Paunović, 2010):

$$\frac{dQ}{dt} = -\lambda S \frac{\partial T}{\partial x} \left( \frac{J}{s} \right) \quad (8)$$

$\lambda$  ( $m^2/s$ ) je *molekulski koeficijent provođenja toplote*;  $S$  je veličina površine normalne na pravac po kome se temperatura menja, a  $x$  je rastojanje.

Fluks toplote predstavlja količinu toplote koja u jedinici vremena prođe kroz neku površinu  $S$ . Specifični toplotni fluks ili gustina toplotnog fluksa se izražava (Paunović, 2010):

$$\frac{dQ}{dt} \cdot \frac{1}{S} = q = -\lambda \frac{\partial T}{\partial x} \left( \frac{J}{s \cdot m^2} \right) \quad (9)$$

Ako se fluks  $q$  formuliše preko koncentracije veličine koja se prenosi onda sledi (Çengel, 1998; Paunović, 2010):

$$q = -\frac{\lambda}{\rho c_p} \frac{d(\rho c_p T)}{dx} = -a \frac{d(\rho c_p T)}{dx} \left( \frac{J}{s \cdot m^2} \right) \quad (10)$$

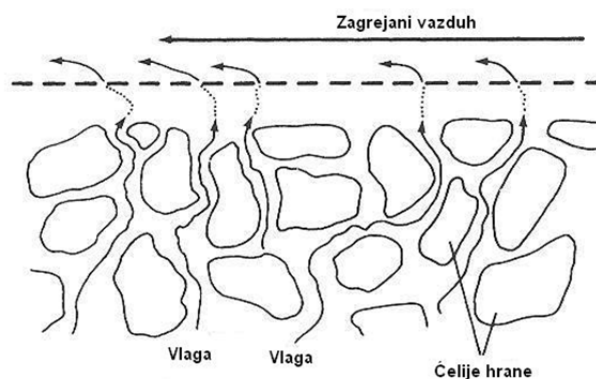
gde je  $\rho$  gustina,  $c_p$  je specifična toplota, a  $a$  je *termička difuzivnost* ( $m^2/s$ )

Negativan znak u jednačinama (8), (9) i (10) ukazuje na smer provođenja toplote od toplije prema hladnijoj površini.

Migracija vode u kapilarno-porozno-koloidnim materijalima zavisi od potencijala prenosa vode na koji utiču: forma vezivanja vode sa strukturnim elementima, gradijent temperature, gradijent vlažnosti, gradijent ukupnog pritiska, gradijent koncentracije rastvorenih komponenti u vodi, kao i biološka aktivnost. Dakle, radi se o veoma složenom fenomenu pa se čitav proces migracije vlage pojednostavljeno smatra molekulskom difuzijom koju opisuje Fikov zakon, a koji je u analogiji sa Furijeovim zakonom provođenja toplote. Difuzioni fluks vode ili količina vode koja u jedinici vremena prođe kroz neku površinu proporcionalna je gradijentu njene koncentracije. Gustina difuzionog fluksa vode je (Comaposada, 1999; Babić i Babić, 2000; Paunović, 2010):

$$Nv = -D \frac{\partial C}{\partial x} \left( \frac{kg}{s \cdot m^2} \right) \quad (11)$$

Koeficijent proporcionalnosti  $D$  ( $\text{m}^2/\text{s}$ ) se naziva **molekulski koeficijent difuzije** i u opštem slučaju zavisi od koncentracije, pritiska i temperature.  $C$  je koncentracija vlage ( $\text{kg}/\text{m}^3$ ), a  $x$  je rastojanje. Negativan znak u Fikovom zakonu ukazuje na tok materije u smeru smanjenja koncentracije. Pri tome je smer gradijenta koncentracije vlage suprotan od smera gradijenta temperature.



Slika 2.13. Kretanje vlage tokom konvektivnog sušenja hrane (Fellows, 2000)

### **Transport toplote i mase vlage sa granične površine materijala i radnog medijuma**

Količina toplote koju vlažan vazduh u jedinici vremena preda graničnoj površini materijala, po jedinici površine (Çengel, 1998; Paunović, 2010):

$$q_{x=0} = -\alpha (T_f - T_x) \quad (12)$$

$\alpha$  je koeficijent konvekcije ili koeficijent prelaza toplote ( $\text{J}/\text{m}^2\text{sK}$ );

$T_f$  i  $T_x$  su temperatura vlažnog vazduha (fluida) u neporemećenoj struji daleko od mesta razmene i temperatura granične površine materijala (K).

Izraz (12) je pogodan za određivanje toplotnog fluksa samo kada na površini razmene ima dovoljno vlage, a to je stacionaran slučaj.

Masa vlage koja je migracijom kroz materijal došla do granične površine predaje se okolnom vlažnom vazduhu. Analogno prenosu toplote, definiše se fluks prelaza vlage sa granične površine materijala na vlažan vazduh (Babić i Babić, 2000, Paunović, 2010):

$$Nv = -\beta v (p_{v,f} - p_{v,s}) \left( \frac{\text{kg}}{\text{m}^2\text{s}} \right) \quad (13)$$

$p_{v,f}$  i  $p_{v,s}$  - parcijalni pritisci vodene pare u vlažnom vazduhu, dovoljno daleko od granične površine, i na graničnoj površini, redom.

### ***Kinetika konvektivnog sušenja***

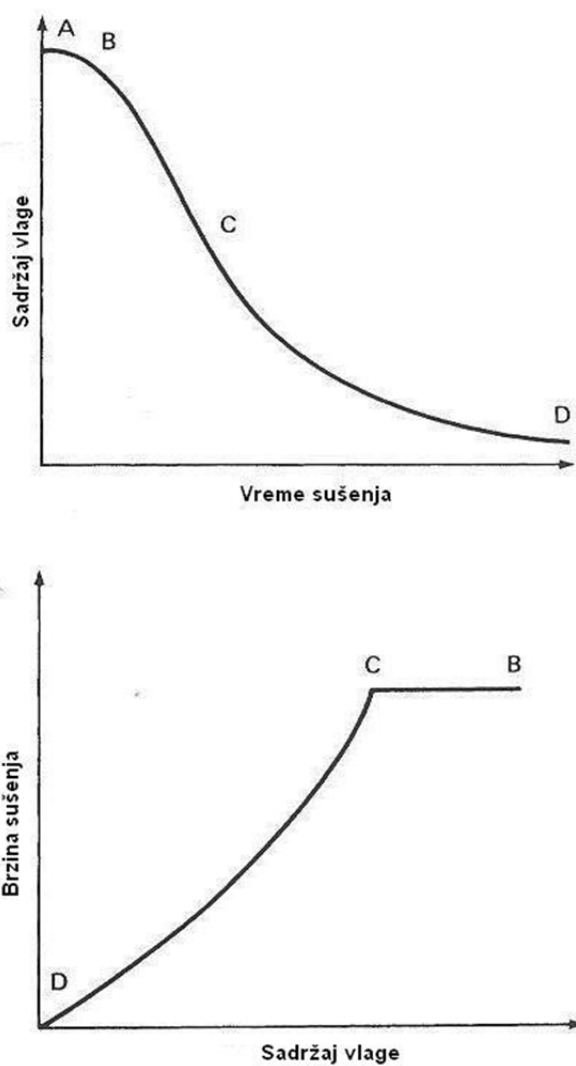
Kada se vlažan materijal nađe u struji zagrejanog vazduha, čija temperatura se naziva *temperatura suvog termometra*<sup>1</sup>, dolazi do prelaska izvesne količine vlage u parnoj fazi sa površine na okolni vazduh. U isto vreme se konvektivno predata količina toplote graničnoj površini materijala kondukcijom rasprostire ka njegovoj unutrašnjosti. Ova količina toplote omogućava fazni prelaz vode, odnosno isparavanje. Intenzitet isparavanja vlage u materijalu stalno se povećava, a takođe i intenzitet prelaska vodene pare sa granične površine u okolni vazduh. Ovaj period se označava kao *period zagrevanja materijala* i za kratko vreme temperatura materijala postaje jednaka *temperaturi vlažnog termometra*<sup>2</sup> vazduha za sušenje (A-B, slika 2.14. (a)). Usled značajnog temperaturnog gradijenta, gradijenta koncentracije vlage i gradijenta ukupnog pritiska u materijalu, vlaga difunduje do granične površine i ravnomerno prelazi u okolinu. Prema tome, ovaj period se karakteriše konstantnim odavanjem vlage sa jedinične površine materijala u jedinici vremena i označava se kao period *konstantne brzine sušenja* (B-C, slika 2.14. (a) i (b)). U realnim uslovima različiti delovi vlažnog materijala se suše različitom brzinom zbog nejednakog inteziteta isparavanja vlage sa površine i difuzije vlage u materijalu. Naime, migracija vlage iz unutrašnjosti ka površinskim delovima materijala ima manji intenzitet u odnosu na intenzitet isparavanja te dolazi do momenta u kojem granični sloj materijala dostiže ravnotežnu vlažnost, nasuprot unutrašnjosti gde je vlažnost još uvek daleko veća od ravntotežne. Postignuta srednja (integralna) vlažnost se naziva *kritična vlažnost* (Babić i Babić, 2000; Andrés i sar., 2007).

Kada sadržaj vlage u materijalu postane niži od vrednosti za *kritičnu vlažnost* brzina sušenja polako opada do postizanja *ravnotežnog sadržaj vlage materijala*. Ovaj period sušenja se označava kao *period opadajuće brzine sušenja* (C-D, slika 2.14. (a) i (b)). Ukoliko se tokom ovog perioda, koji je najčešće najduži deo operacije sušenja prehrambenih proizvoda, nastavi sa dopremanjem iste količine toplote površina materijala se zagreva do postizanja temperature suvog termometra vazduha za sušenje kada mogu nastati negativne promene na hrani usled povišene temperature. Dakle, tokom *perioda opadajuće brzine sušenja* temperaturu vazduha je potrebno uskladiti brzini sušenja koja zavisi od različitih faktora. Na početku ovog perioda ti faktori su slični onima tokom *perioda konstantne brzine sušenja*, dok kasnije brzina migracije vlage (transport mase) unutar materijala postaje najznačajniji faktor koji se dešava usled (Fellows, 2000; Andrés i sar., 2007):

<sup>1</sup> Radna (tekuća) temperatura gasovite faze agensa za sušenje izmerena termometrom.

<sup>2</sup> Temperatura termometra umotanog u vlažnu krpu. Ova temperatura je niža od temperature suvog termometra usled isparavanja vode.

- kretanja vode izazvanog kapilarnim silama, kod poroznih supstanci,
- difuzije vode izazvane razlikom koncentracije rastvorenih supstanci u unutrašnjosti i na površini proizvoda,
- difuzije vode adsorbovane na površini čvrstih komponenti hrane,
- difuzije vodene pare u vazдушnim prostorima hrane, izazvane razlikom parcijalnih pritisaka.



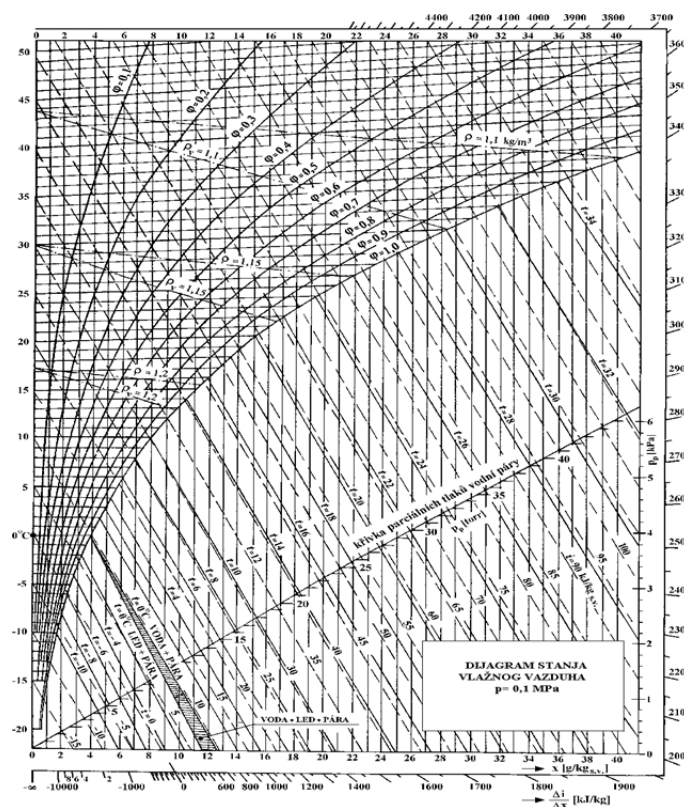
Slika 2.14. Kinetičke krive sušenja i brzine sušenja: (a) promena sadržaja vlage u vremenu i (b) zavisnost brzine sušenja od sadržaja vlage (Fellows, 2000)

Tokom perioda opadajuće brzine sušenja jedan ili više od navedenih mehanizama presudno određuje brzinu sušenja, a relativni uticaj svakog od njih se menja kako se operacija sušenja odvija (Fellows, 2000).

Izgled kinetičkih krivih sušenja i brzine sušenja zavisi od prirode materijala i spoljašnjih uslova, odnosno režima sušenja. Pri konstantnim uslovima tok krivih govori o ponašanju određenog materijala u procesu konvektivnog sušenja. Podaci na osnovu kojih se crtaju krive sušenja dobijaju se eksperimentalno u kontrolisanim uslovima (Babić i Babić, 2000; Andrés i sar., 2007).

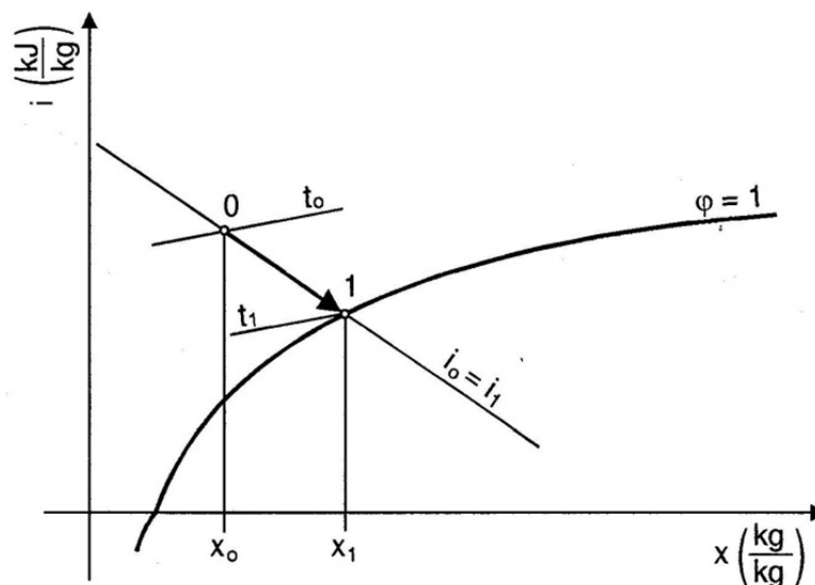
### ***Predstavljanje konvektivnog načina sušenja materijala u $i$ - $x$ dijagramu stanja vlažnog vazduha***

Tokom konvektivnog sušenja vlažnog materijala nezasićen vlažan vazduh je nosilac energije potrebne za zagrevanje i isparavanje vlage iz materijala. Taj isti vazduh je i primalac isparene vode. Usled toga početno stanje vlažnog vazduha će se menjati u zavisnosti od načina razmene toplote i mase vlage između učesnika procesa. Za poznati pritisak, sadržaj vlage i entalpiju vlažnog vazduha moguće je sačiniti grafički prikaz pomenutih veličina u dijagramu sa kosouglim koordinatnim osama (slika 2.15) (Valent, 2001).



Slika 2.15. Termodinamički dijagrama stanja vlažnog vazduha

Kada nezasićen vlažan vazduh stanja 0 ( $t_0, x_0, p_0 = \text{const.}$ ) struji oko vlažnog materijala u sušnici, on će preuzeti određenu količinu vlage od materijala tako da će na izlazu imati veću vlažnost, što znači da se novo (izlazno) stanje vazduha mora nalaziti desno od linije  $x_0 = \text{const.}$  (slika 2.16). Ukupna količina energije vlažnog vazduha tj. entalpija, u teorijskom (idealizovanom) procesu, ne menja se tokom sušenja jer se koristi samo za isparavanje vlage iz vlažnog materijala. To znači da se sva količina toplote predaje samo molekulima vodene pare u kapilarama i porama čime se povećava unutrašnja energija molekula te su oni u stanju da savladaju privlačne sile strukturnih elemenata materijala, da se brže kreću kroz kapilarno-poroznu strukturu, da napuste graničnu površinu i tako pređu u okolni vlažan vazduh. Dolaskom u vazduh za sušenje oni vraćaju predatu toplotu pa se na taj način ukupna količina energije vazduha za sušenje ne menja, odnosno ostaje ista na ulazu i izlazu uređaja za sušenje. Dakle, ukupna entalpija ulaznog vazduha stanja 0 ( $t_0, x_0, i_0$ ) jednaka je entalpiji izlaznog vazduha stanja 1 ( $t_1, x_1, i_1$ ),  $i_0 = i_1$  (slika 2.16) (Valent, 2001; Babić i Babić, 2000).



Slika 2.16. Šematski prikaz promene stanja vlažnog vazduha pri idealizovanom (teorijskom) konvektivnom procesu sušenja (Babić i Babić, 2000)



Duž 0-1 (slika 2.16) predstavlja tipičnu promenu stanja vlažnog vazduha tokom prirodnog sušenja materijala. Ovakva promena stanja vlažnog vazduha se ne odvija u realnim uređajima za sušenje. Dovođenjem toplote kapacitet vazduha za sušenje da primi vlagu iz materijala se višestruko povećava. U zavisnosti od načina zagrevanja i korišćenja vazduha postoji (Babić i Babić, 2000):

- jednoprolazno sušenje,
- višeprolazno sušenje,
- stepenasto sušenje (sa dogrevanjem),
- izotermno sušenje,
- sušenje sa recirkulacijom radnog fluida,
- sušenje sa rekuperacijom ili regeneracijom toplote.

Svaki od navedenih načina konvektivnog sušenja moguće je šematski predstaviti u i-x dijagramu stanja vlažnog vazduha.

### 2.2.3. SUŠENJE MESA I PROIZVODA OD MESA

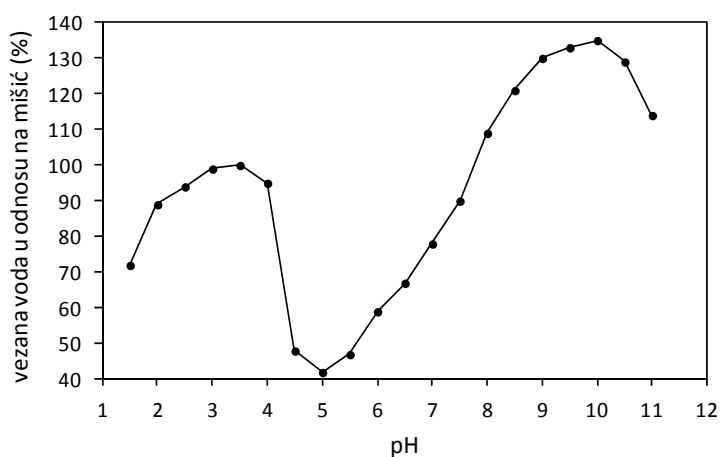
Kao što je prethodno rečeno, pračovjek je i u najranijim godinama svog postojanja koristio postupak sušenja mesa kako bi ga sačuvao za kasniju upotrebu. On je shvatio da trajnost te dragocene namirnice može produžiti ukoliko je izlaže uticaju sunca i vetra, a nešto kasnije i uticaju vatre (topao vazduh) i dima. Međutim, ukoliko bi konzervisanje mesa trebalo postići isključivo sušenjem i dimljenjem, krajnji sadržaj vlage bi morao biti veoma nizak kako bi se dobio bezbedan proizvod sa mikrobiološkog aspekta. Ovo bi sa druge strane značilo senzorno neprihvatljiv proizvod.

Danas, baš kao i hiljadama godina unazad konzervišući efekat sušenja se ne postiže isključivo isparavanjem vode iz mesa, odnosno smanjenjem  $a_w$  vrednosti, već je to kumulativni efekat više tehnika konzervisanja, zasnovan na kompleksnim fizičko-hemijskim i biohemijskim pojavama. Pojedinačno ove metode konzervisanja nisu dovoljne da spreče rast i razvoj patogenih i truležnih mikroorganizama, međutim zajedno one čine sistem prepreka koji omogućava dobijanje bezbednih proizvoda visokog kvaliteta (Leistner, 1994).

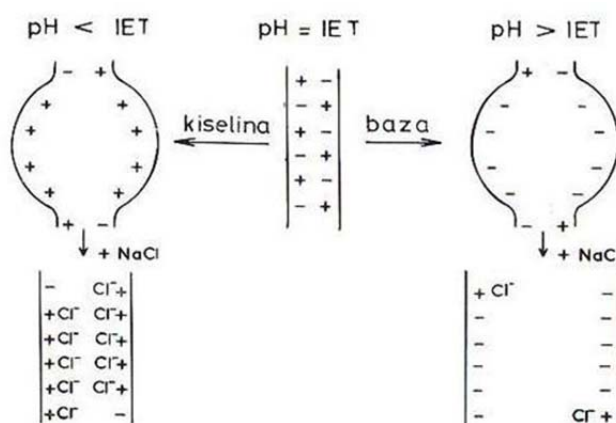
Pored sušenja u proizvodnji suvih fermentisanih proizvoda od mesa se koriste sledeće metode konzervisanja: hlađenje, soljenje i salamurenje, dodavanje začina koji inhibiraju rast mikroorganizama, dimljenje, fermentacija i pakovanje u vakuumu ili modifikovanoj atmosferi. Najznačajnija među njima je svakako fermentacija, odnosno razlaganje prisutnih ugljenih hidrata metaboličkom aktivnošću bakterija mlečne kiseline (BMK) do organskih kiselina, a prevashodno mlečne, usled čega dolazi do smanjenja vrednosti pH, što deluje negativno na većinu mikroorganizama (Leistner, 1994; Andrés i sar., 2007; Petäjä-Kanninen i Puolanne, 2007).

Pad vrednosti pH pozitivno deluje i na proces sušenja jer se sposobnost vezivanja vode (SVV) proteina mesa smanjuje u oblasti izoelektrične tačke (IET) aktomiozina. Izraziti minimum SVV se javlja pri  $\text{pH} \approx 5$ , kada je broj pozitivno naelektrisanih grupa jednak broju negativno naelektrisanih grupa, te je privlačenje između susednih molekula proteina maksimalno (Slika 2.17, 2.18). Kada usled intenzivnog procesa fermentacije nastane više kiseline ili se ona pak doda u formi aditiva tokom izrade nadeva, te pH padne ispod vrednosti 5, tada dolazi do ponovnog rasta SVV. Ova pojava se objašnjava činjenicom da su kiseline donori protona koji neutrališu elektronegativne grupe čime se smanjuje privlačenje između suprotno naelektrisanih grupa, odnosno povećava odbijanje istoimeno naelektrisanih grupa. Tako se između lanaca proteina stvaraju veći intermolekularni prostori u koje se može uklopiti veća količina vode (*imobilizovana voda*). Takođe, dodata kuhinjska so, u zavisnosti

od vrednosti pH, ima određeni uticaj na SVV mesa (Slika 2.18). Pri  $\text{pH} > \text{IET}$  NaCl povećava SVV mesa, pri  $\text{pH} < \text{IET}$  snižava SVV, dok u području IET ima samo neznatan uticaj. Naime, NaCl je u vodenom rastvoru disosovan na  $\text{Na}^+$  i  $\text{Cl}^-$  jone, a za njegov uticaj na SVV mesa su primarno odgovorni hloridni joni. Pri  $\text{pH} > \text{IET}$  oni se vezuju za preostale pozitivno naelektrisane grupe, te se pojačava odbijanje negativno naelektrisanih grupa što dovodi do povećanja prostora između lanaca proteina. Nasuprot, pri  $\text{pH} < \text{IET}$  vezivanjem  $\text{Cl}^-$  jona se smanjuje odbijanje pozitivno naelektrisanih grupa, te se stvara kompaktnija proteinska mreža koja zadržava manje *imobilizovane vode*. Takođe, uticaj NaCl na SVV zavisi i od dodate količine soli, odnosno jonske jačine u mesu (Hamm, 1972; 1974; Rede i Petrović, 1997; Schneider i Rede; 1999).



Slika 2.17. Uticaj pH na hidraciju homogenizovanog goveđeg mišića (Hamm, 1972)



Slika 2.18. Šematski prikaz međusobnog položaja molekula proteina pri vrednostima pH iznad i ispod izoelektrične tačke (IET), i dejstvo hloridnog jona kuhinjske soli na njihovu sposobnost vezivanja vode (bubrenje) (Hamm, 1974)

Razvojem spontane aerobne mikroflore brzo se troši zaostali kiseonik u nadevu, te dolazi do pada redoks potencijala (Eh) i nastanka „negativnih“ uslova u kojima naglo raste broj BMK, koje su fakultativno ili mikroaerofilne, te one deluju kompetitivno na ostatak prisutne mikroflore (Leistner, 1994; Petäjä-Kanninen i Puolanne, 2007). Savremena industrija mesa u procesu soljenja i salamurenja skoro isključivo koristi nitritnu i/ili nitratnu so. Nitritni jon ( $\text{NO}_2^-$ ) oslobođen tokom procesa proizvodnje ispoljava bakteriostatsko i baktericidno delovanje. Takođe, uz operaciju sušenja obično ide i postupak dimljenja kojim se ostvaruje dodatni antimikrobni efekat (Honikel, 2007). Dakle, iz svega navedenog, može se zaključiti da su sušeni fermentisani industrijski proizvodi od mesa u potpunosti bezbedni za čovekovu upotrebu.

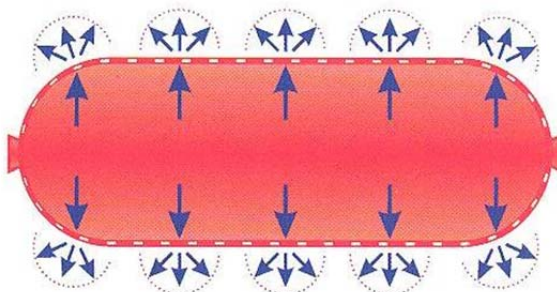


Slika 2.19. Sušenje šunki (pršuta) i fermentisanih kobasica u kontrolisanim uslovima

Suve fermentisane kobasice i suva šunka su tradicionalni proizvodi od mesa koji se izrađuju od davnina. Iako danas postoje različiti moderni postupci za konzervisanje mesa kao što su smrzavanje, hlađenje, toplotni tretmani, ovi proizvodi od mesa se i dalje proizvode u velikim količinama zahvaljujući jedinstvenim i veoma cenjenim senzornim svojstvima. Poželjan ukus i aroma sušenih fermentisanih proizvoda od mesa se razvijaju u kasnijim fazama proizvodnje, odnosno tokom procesa zrenja. Tada pod uticajem enzima mišićnog tkiva i mikroorganizama dolazi do hidrolize proteina i masti, te nastanka jedinjenja male molekulske mase (Arnau i sar., 2007; Petäjä-Kanninen i Puolanne, 2007). O procesima proteolize i lipolize će biti više reči u narednim poglavljima.

S obzirom na složenu strukturu, sastavljenu iz ćelija koje su prestale sa životnim funkcijama, sušenje mesa i proizvoda od mesa je dosta komplikovano jer na brzinu sušenja u velikoj meri utiče prenos vode iz unutrašnjosti miofibrila u sarkoplazmu, zatim iz mišićnih ćelija u međucelijske prostore, a potom i iz unutrašnjosti komada koji se suši ka površini. Nakon odavanja slobodne vode, vezani deo vode difunduje ka površini, a unutrašnji transport se odvija preko ćelijskih zidova i različitih tkiva usled čega brzina ovog transporta nije poznata (Valent, 1991; Baldini i sar., 2000; Puolanne i Halonen, 2010).

U slučaju proizvodnje fermentisanih kobasica proces sušenja se još više usložnjava zbog prisustva omotača čija propustljivost i mehanička svojstva u značajnoj meri mogu da utiču na karakter i brzinu sušenja (Slika 2.20).



Slika 2.20. Kretanje vlage tokom sušenja kobasice (Savić i Savić, 2004)

Generalno posmatrano, u procesu sušenja kobasica i drugih proizvoda od mesa mogu se izdvojiti tri osnovne faze:

- zagrevanje proizvoda i obrazovanje vodene pare na površini i u unutrašnjosti proizvoda,
- prenos vodene pare u spoljašnju sredinu preko graničnog sloja između proizvoda i okolnog vazduha – *spoljašnja difuzija* i
- prenos vode od centralnih do perifernih slojeva unutar proizvoda – *unutrašnja difuzija*.

Kada se kobasica nađe u struji vazduha za sušenje, usled temperature razlike dolazi do prelaska određene količine toplote sa vazduha na graničnu površinu proizvoda:

$$Q = -\alpha S (T_{vaz.} - T_{pov.kob.}) \left(\frac{J}{s}\right) \quad (14)$$

Fluks prelaza toplote sa vazduha na graničnu površinu je:

$$\frac{Q}{S} = q = -\alpha (T_{vaz.} - T_{pov.kob.}) \left(\frac{J}{m^2s}\right) \quad (15)$$

gde je  $\alpha$  koeficijent prelaza toplote sa vazduha na kobasicu ( $J/m^2sK$ ),  $S$  je površina kobasice ( $m^2$ ), a  $T_{vaz.}$  i  $T_{pov.kob.}$  su temperature vazduha i površine kobasice (K), redom.

Količina toplote koja je sa vazduha prešla na graničnu površinu kobasice dalje se provodi ka unutrašnjosti proizvoda kao rezlutat težnje ka uspostavljanju termičke ravnoteže, što se, kako je ranije navedeno, opisuje Furijeovim zakonom:

$$\frac{dQ}{dt} = -\lambda S \frac{\partial T}{\partial x} \left(\frac{J}{s}\right) \quad (16)$$

gde je  $\lambda$  molekulski koeficijent provođenja toplote ( $\text{m}^2/\text{s}$ ),  $S$  je površina ( $\text{m}^2$ ) normalna na pravac po kojem se temperatura menja, a  $x$  je rastojanje (m).

U slučaju kobasice količina toplote koja prođe kroz neki sloj oblika cilindra (površina  $S = 2\pi rL$ ) u jedinici vremena, može se izraziti na sledeći način (Çengel, 1998):

$$Q = 2\pi L \lambda \frac{T_1 - T_2}{\ln(r_2/r_1)} \left(\frac{J}{s}\right) \quad (17)$$

gde je  $L$  dužina kobasice (cilindra),  $\lambda$  je molekulski koeficijent provođenja toplote ( $\text{m}^2/\text{s}$ ), a  $T_1$  i  $T_2$  su temperature na rastojanjima  $r_1$  i  $r_2$  od centra kobasice.

Pošto je kobasica od okolnog vazduha za sušenje primila određenu količinu toplote u unutrašnjosti i na površini proizvoda dolazi do faznog prelaska vode u gasovito stanje, te prenosa formirane vodene pare sa granične površine u okolni vazduh. Ovaj proces se naziva *spoljašnja difuzija*, a njegova osnovna potencijalna snaga je razlika u parcijalnim pritiscima vodene pare na površini proizvoda i u okolnoj sredini. Analogno prenosu toplote, definiše se količina vodene pare ( $m_v$ ) koja u jedinici vremena prelazi sa međufazne površine na vazduh koji struji:

$$m_v = -\beta v S (p_{v,vaz.} - p_{v,pov.kob.}) \left(\frac{kg}{s}\right) \quad (18)$$

kao i fluks vodene pare ( $N_v$ ):

$$\frac{m_v}{S} = N_v = -\beta v (p_{v,vaz.} - p_{v,pov.kob.}) \left(\frac{kg}{m^2s}\right) \quad (19)$$

gde je  $\beta_v$  koeficijent prelaza vode (m/s), a  $p_{v,vaz.}$  i  $p_{v,pov.kob.}$  su parcijalni pritisci vodene pare u vlažnom vazduhu i na površini kobasice, redom.

Količina isparene vode sa površine kobasice se može izraziti i na sledći način (Stepanov i Tojagić, 1969):

$$\frac{m_v}{S\tau} = A \frac{M_r D \Delta p}{RT_p l} \left(\frac{kg}{m^2s}\right) \quad (20)$$

gde je  $m_v$  količina isparene vlage (kg),  $\tau$  vreme (s),  $S$  površina isparavanja ( $\text{m}^2$ ),  $M_r$  molekulska masa vode,  $D$  koeficijent difuzije vodene pare u vazduh,  $R$  gasna konstanta ( $\text{J/kgK}$ ),  $T_p$  temperatura u graničnom sloju - srednja vrednost između temperature vazduha i temperature površine kobasice,  $l$  dužina površine isparavanja (kobasice) u pravcu toka vazduha (m),  $\Delta p$  razlika parcijalnih pritisaka na površini kobasice i u vazduhu,  $A$  je funkcija

Rejnoldsovog broja ( $Re = wd\rho/\eta$ , gde je  $w$  brzina strujanja vazduha (m/s),  $d$  efektivni prečnik prostora kroz koji struji vazduh,  $\rho$  gustina vazduha i  $\eta$  je viskozitet.

Dakle, na osnovu izraza kojima se definiše prenos toplote i mase između vazduha i površine kobasice može se videti da proces sušenja zavisi od sledećih promenljivih veličina:

- temperature vazduha, odnosno temperature površine kobasice  $t_{vaz.}$  i  $t_{pov.kob.}$ ,
- brzine strujanja vazduha  $w$  (preko Rejnoldsovog broja, odnosno funkcije  $A$ ),
- vlažnosti vazduha, odnosno razlike parcijalnih pritisaka vodene pare na površini proizvoda i u vazduhu  $\Delta p$ ,
- koeficijenta difuzije  $D$ .

Očito je da bi povećanje brzine strujanja vazduha, temperature, razlike  $\Delta p$  i površine u jedinici vremena dalo veću količinu isparene vlage i obrnuto (Stepanov i Tojagić, 1969).

Od samog početka procesa sušenja isparavanje vlage sa površine kobasice uslovljava smanjenje vlažnosti perifernog sloja, te povećanje koncentracije rastvorenih supstanci i udela čvrsto vezane vode. Usled toga, parcijalni pritisak vodene pare na površini proizvoda počinje da opada, pa se i brzina prenosa vlage u spoljnu sredinu smanjuje (Petrović, 2012).

Usled sušenja perifernog sloja brzo se uspostavlja gradijent koncentracije vlage između pojedinačnih slojeva kobasice od centra ka periferiji. Kao rezultat spontane težnje sistema (kobasice) za izjednačavanjem koncentracije komponente (vode) u svim njegovim delovima, započinje unutrašnji transport vlage u smeru smanjenja koncentracionog gradijenta, odnosno od centra ka periferiji. Ova pojava se naziva *unutrašnja difuzija vlage*. Mehanizam unutrašnje difuzije vlage u mesu je veoma kompleksan, s obzirom da to nije samo prosto kretanje vlage u sistemu pora i kapilara proizvoda, nego vrlo komplikovan proces prelaza molekula vode iz jednog hidracionog sloja, koji okružuje disperznu česticu, u drugi sloj manje zasićen vlagom. Dakle, radi se o veoma složenom fenomenu pa se čitav proces migracije vlage u mesu pojednostavljeno smatra molekulskom difuzijom koju opisuje Fikov zakon (Comaposada, 1999; Babić i Babić, 2000; Paunović, 2010; Petrović, 2012):

$$Nv = -D \frac{\partial C}{\partial x} \left( \frac{kg}{s m^2} \right) \quad (21)$$

gde je  $Nv$  fluks vode, odnosno količina vode koja u jedinici vremena prođe kroz neku površinu,  $D$  je molekulski koeficijent difuzije ( $m^2/s$ ),  $C$  je koncentracija vlage ( $kg/m^3$ ), a  $x$  je rastojanje.

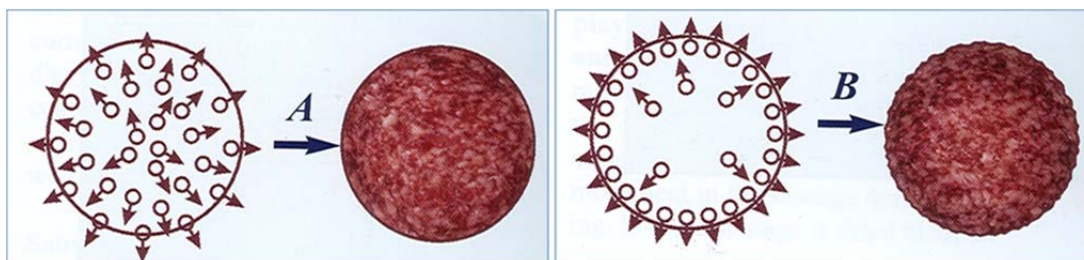
U slučaju kobasice, analogno provođenju toplote, količina vlage koja tokom unutrašnje difuzije prođe kroz neki sloj oblika cilindra (površina  $S = 2\pi rL$ ) može se izraziti na sledeći način (Çengel, 1998):

$$m_v = 2\pi L \rho_k D \frac{w_1 - w_2}{\ln(r_2/r_1)} = 2\pi L D \frac{\rho_1 - \rho_2}{\ln(r_2/r_1)} \left(\frac{kg}{s}\right) \quad (22)$$

gde je  $m_v$  količina vlage (kg) koja difunduje u jedinici vremena,  $L$  je dužina kobasice (cilindra),  $\rho_k$  je ukupna gustina kobasice,  $D$  je molekulski koeficijent difuzije ( $m^2/s$ ),  $w_1$  i  $w_2$  su maseni udeli vode na rastojanjima  $r_1$  i  $r_2$  od centra kobasice (cilindra), a  $\rho_1$  i  $\rho_2$  su parcijalne gustine vode na pomenutim rastojanjima  $r_1$  i  $r_2$ .

Koeficijent difuzije  $D$  se smanjuje usled smanjenja vlažnosti proizvoda i povećanja udela čvrsto vezane vode. Tako je u istom proizvodu koeficijent difuzije  $D$  manji u perifernim nego u centralnim delovima. Ove razlike su utoliko veće ukoliko je veći gradijent vlažnosti, što je naročito karakteristično za površinski sloj. Niske vrednosti koeficijenta difuzije u perifernom sloju imaju presudan značaj za promet vlage, odnosno kinetiku sušenja. Iz jednačina (21 i 22) proizilazi da je brzina unutrašnje difuzije vlage proporcionalna proizvodu koeficijenta difuzije i gradijenta vlažnosti. Na taj način, pri ostalim jednakim uslovima, ista brzina sušenja može se postići pri većem koeficijentu difuzije i manjem gradijentu vlažnosti ili obrnuto (Petrović, 2012).

Pri optimalnim uslovima sušenja brzina spoljašnje difuzije, odnosno isparavanja vlage sa površine proizvoda, približno je jednaka brzini unutrašnje difuzije vlage čime se postiže željena uniformna struktura proizvoda (Slika 2.21, A). Međutim, kada je intenzitet površinskog isparavanja veći od brzine migracije vlage unutar kobasice dolazi do formiranja tamnog perifernog ruba („prstena“), naboranosti površine omotača i rupica u nadevu kobasice (Slika 2.21, B). Nastanak ruba utiče na povećanje tvrdoće površine kobasice, te smanjuje ili pak onemogućava dalje sušenje uzrokujući veliku razliku fizičko-hemijskih i senzornih karakteristika između presušene površine i centra kobasice (Savić i savić, 2004; Andrés i sar., 2007; Zukál i Incze, 2010).



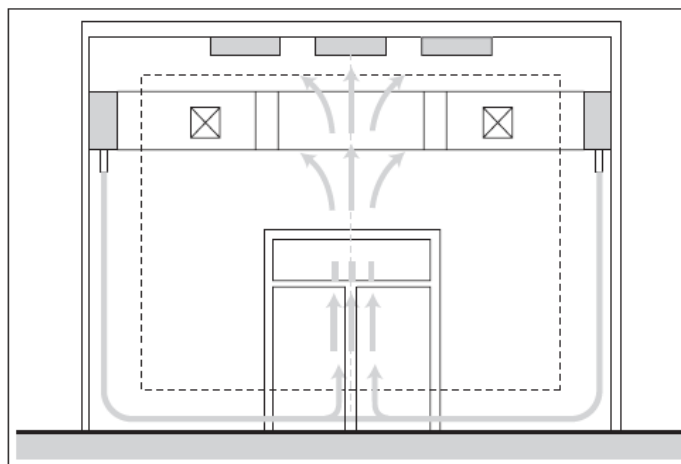
Slika 2.21. Uticaj brzine difuzije vlage na strukturu kobasice (Savić i Savić, 2004)



Jedan od načina da se u industriji izbegne prethodna pojava je regulisanje periodične fluktuacije relativne vlažnosti vazduha za sušenje, od manje ka većoj i obrnuto. Naime, smanjenjem relativne vlažnosti vazduha povećava se brzina spoljašnje difuzije, odnosno isparavanje vlage sa površine proizvoda. Zatim sledi povećanje relativne vlažnosti vazduha za sušenje čime se zaustavlja isparavanje vode sa površine i omogućava migracija vode iz centra ka periferiji. Ova vlaga tokom sledećeg perioda niske relativne vlažnosti vazduha lako isparava. Sa druge strane povećanje temperature takođe može doprineti smanjenju mogućnosti nastanka tvrdog ruba, obzirom da efektivni koeficijent difuzije raste eksponencijalno sa temperaturom. U tom slučaju voda isparena sa površine brzo biva zamenjena vodom koja je difundovala iz unutrašnjosti proizvoda. Međutim, povišena temperatura može izazvati druge probleme kao što je ubrzan rast mikroorganizama i denaturacija proteina (Andrés i sar., 2007).

Dakle, sušenje i zrenje proizvoda od mesa se u većini savremenih objekata za preradu obavlja u modernim klimatizovanim komorama koje raspolažu agregatima za kondicioniranje vazduha. Četiri osnovne operacije u tom procesu su vlaženje, sušenje, hlađenje i grejanje. Zahvaljujući toj savremenoj tehnologiji procesni parametri, odnosno parametri vazduha za sušenje (temperatura, relativna vlažnost, brzina strujanja) se mogu zadavati, regulisati i kontrolisati, te se na taj način može uticati na tok i brzinu sušenja (Baldini i sar., 2000; Vuković, 2006; Andrés i sar., 2007; Zukál i Incze, 2010).

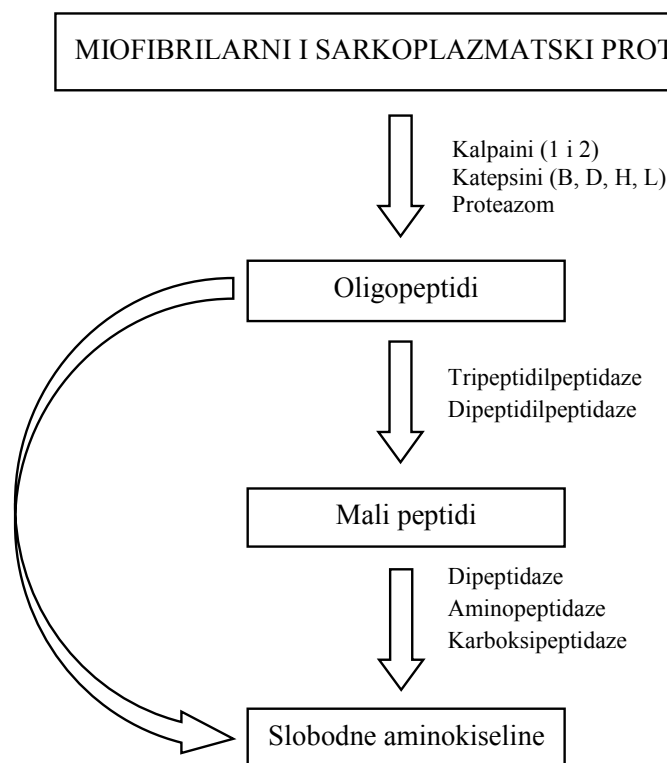
Tokom procesa sušenja veoma je važno obezbediti uniformne uslove u svim delovima komore za sušenje. To se postiže odgovarajućim konstrukcionim rešenjima cirkulacije vazduha u komori. Kondicionirani vazduh se uvodi u komoru kroz otvore postavljene uz bočne zidove, dok se izvođenje vazduha odvija kroz otvore u centralnom delu plafona (Slika 2.22) (Andrés i sar., 2007; Zukál i Incze, 2010). Brzina kretanja vazduha treba da bude minimalna (0,1 - 0,2 m/s), odnosno samo tolika da obezbedi ujednačene termo-higrometrijske uslove u svim delovima komore za sušenje (10 do 20 izmena na čas) (Petrović, 2012).



Slika 2.22. Uobičajen put cirkulacije vazduha u komori za sušenje (Andrés i sar., 2007)

## 2.3. PROCES PROTEOLIZE U SUŠENIM FERMENTISANIM PROIZVODIMA OD MESA

Proteoliza (razgradnja) sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina predstavlja veoma značajan biohemijški fenomen koji se dešava tokom procesa proizvodnje sušenih, fermentisanih proizvoda od mesa. Na tok razgradnje proteina utiču kako endogeni enzimi mišićnog tkiva tako i enzimi mikrobnog porekla, a rezultat tog procesa je slabljenje miofibrilarne mreže i nastanak polipeptida, peptida, aminokiselina, aldehida, organskih kiselina, amina i drugih jedinjenja koja učestvuju u formiranju ukusa, mirisa i teksture ovih proizvoda (Hughes i sar., 2002; Toldrá, 2002; Dalmış i Soyer, 2008; Roseiro i sar., 2008; Spaziani i sar., 2009). Generalno, proteoliza se odvija u više uzastopnih faza prikazanih na slici 2.23. Inicijalna razgradnja najvažnijih miofibrilarnih i sarkoplazmatskih proteina dešava se pod uticajem mišićnih proteinaza (kalpainsi, katepsini, proteazom), a kao rezultat tog procesa nastaju proteinski fragmenti i polipeptidi koji se dalje hidrolizuju na male peptide posredstvom di- i tripeptidilpeptidaza. U poslednjoj fazi procesa iz novonastalih peptida aktivnošću dipeptidaza, aminopeptidaza i karboksipeptidaza nastaju slobodne aminokiseline.



Slika 2.23. Šematski prikaz procesa proteolize tokom proizvodnje sušenih proizvoda od mesa (Toldrá, 2002).

Da bi se mogao razumeti i pravilno objasniti proces zrenja, odnosno proteolitičke promene koje nastaju tokom proizvodnje sušenih fermentisanih proizvoda od mesa, u narednom poglavlju je opisan hemijski sastav i struktura mišićnog tkiva, te osnovni biohemijski procesi i promene koje se dešavaju u skeletnom mišiću *post mortem*.

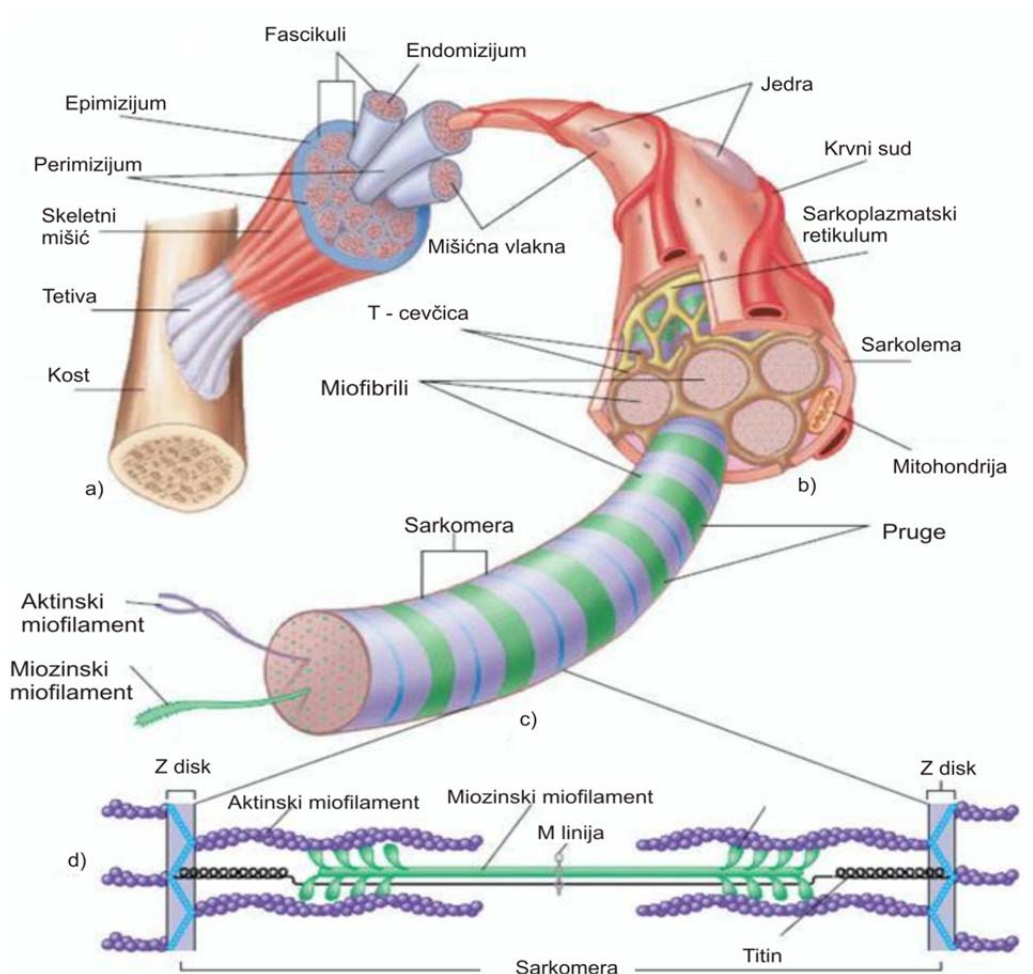
### 2.3.1. HEMIJSKI SASTAV I STRUKTURA SKELETNOG MIŠIĆA

Na osnovu građe, strukture, položaja i funkcije u telu životinje mišići se mogu podeliti u sledeće grupe: poprečno-prugasti (skeletni), glatki i srčani. Poprečno-prugasto tkivo čini skeletnu muskulaturu, srčano tkivo gradi srčani mišić, dok se glatko mišićno tkivo nalazi u zidovima probavnih organa, krvnih sudova, urinarnog trakta i drugih kanala. Sa stanovišta tehnologije mesa najvažniji su poprečnoprugasti ili skeletni mišići, koji predstavljaju meso u najužem smislu i čiji udeo u ukupnoj masi tela je veoma visok (Rede i Petrović, 1997; Honikel, 1999; Toldrá, 2002).

Generalno posmatrano, osnovni hemijski sastav mesa čine sledeće komponente: voda ( $\approx 75\%$ ), proteini ( $\approx 19\%$ ), lipidi ( $\approx 2,5\%$ ), ugljeni hidrati ( $\approx 1,2\%$ ), neproteinske azotne materije ( $\approx 1,7\%$ ) i ostale neproteinske materije (minerali, vitamini i dr.) ( $\approx 0,6\%$ ). Međutim, mora se imati u vidu da je meso rezultat postmortalne transformacije kompleksnog biološkog tkiva, odnosno mišića, od čije pozicije i uloge u telu za vreme života životinje u velikoj meri zavisi hemijski sastav i nutritivni kvalitet ove visokovredne namirnice (Lawrie i Ledward, 2006; Huff-Lonergan, 2010).

Dakle, voda je najzastupljenija komponenta mišića, čiji prosečan sadržaj iznosi 75%, a u mišiću *post mortem* ovaj udeo može značajno varirati u intervalu od 65 do 80%. Voda je značajna za proces termoregulacije, za mnoge ćelijske procese, kao i za transport hranljivih materija preko vaskularnog sistema do mišića i pojedinačnih ćelija. Druga najzastupljenija komponenta mišića su proteini. Oni čine oko 19% mase mišića, ali sadržaj može varirati od 16 do 22%. Proteini su primarna gradivna i funkcionalna komponenta mišića. Mogu se podeliti u tri osnovne grupe: miofibrilarni, sarkoplazmatski i vezivnotkivni, o kojima će biti više reči u narednim poglavljima. Prosečan sadržaj lipida u mišiću iznosi oko 2,5% i može značajno da varira (1-13%) u zavisnosti od više faktora, a najznačajniji su rasa, starost i način ishrane životinje, kao i tip mišića. Lipidi u skeletnom mišiću čine rezervu energije, zatim ulaze u sastav membrana i učestvuju u raznim drugim procesima. Dva osnovna tipa lipida koji se mogu naći u mišiću su trigliceridi i fosfolipidi. Zastupljenost ugljenih hidrata u mišićnom tkivu je veoma mala, oko 1%, a sadržaj može varirati od 0,5 do 1,5%. Najveći procenat čine

mlečna kiselina i glikogen, dok ostatak ugljenih hidrata predstavljaju glukoza i drugi mono- i disaharidi. Skeletni mišić sadrži i veliki broj različitih neproteinskih supstanci poput kreatina, nukleotida (ATP, ADP), slobodnih aminokiselina, peptida, vitamina, minerala i dr. (Rede i Petrović, 1997; Lawrie i Ledward, 2006; Huff-Lonergan, 2010).



Slika 2.24. Šematski prikaz strukture skeletnog mišića  
(<http://www.apsu.edu> - Gross Anatomy of Skeletal Muscle)

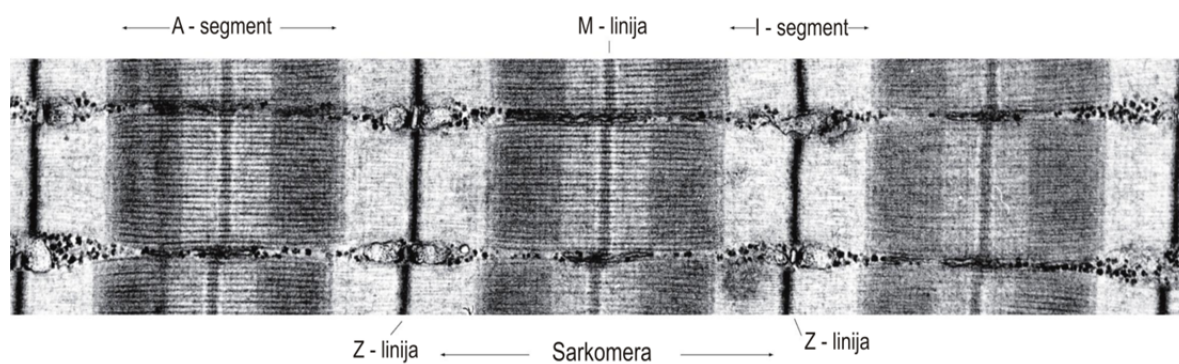
Skletni mišić karakteriše vrlo kompleksna struktura i organizacija, koja proizilazi iz potrebe efikasnog transfera energije od nivoa mišićne ćelije do nivoa mišića, odnosno dela tela, kako bi se realizovao čitav niz različitih mehaničkih funkcija. Mišić je obavijen relativno debelim slojem vezivnog tkiva koji se naziva *epimizijum*, i koji se kod većine mišića nastavlja do tetiva, a preko njih se mišić vezuje za kost. Sastoji se od snopova mišićnih ćelija (*fascikuli*), koji su takođe pojedinačno obavijeni slojem vezivnog tkiva pod nazivom *perimizijum*. Sama mišićna ćelija je obavijena još jednim slojem vezivnog tkiva (*endomizijum*) koji se nalazi iznad ćelijske membrane *sarkoleme* (Slika 2.24.a) (Rede i Petrović, 1997; Honikel, 1999; Huff-Lonergan, 2010).

Mišićna vlakna su duge vretenaste višejedarne ćelije čije dimenzije variraju u zavisnosti od rase, starosti, načina korišćenja, načina ishrane, pozicije i funkcije koju mišić obavlja u telu životinje, a najveći broj je dužine od 1 do 5 cm, ali mogu biti i do 30 cm. Promer im je od 10 do 100  $\mu\text{m}$ , ređe i do 150  $\mu\text{m}$ . Mišićna vlakna se sastoje od ćelijske membrane (*sarkoleme*), citoplazme (*sarkoplazme*), jedara, organela i inkluzija (Slika 2.24.b). Sarkolema je fina ovojnica koja obavija čitavo vlakno i na taj način odvaja intercelularnu tečnost od ekstracelularne, a sastoji se od dva sloja, ukupne debljine od oko 10 nm. Transport vode kroz ovu ćelijsku membranu je prilično spor. Kao što je već rečeno, na spoljni sloj sarkoleme se vezuje međućelijsko vezivno tkivo, *endomizijum*. Sarkolema je izgrađena od bimolekularnog sloja fosfolipida čiji je nepolarni deo, sastavljen od lanaca masnih kiselina, okrenut ka unutra, upravo na ravan membrane. Polarni deo fosfolipida, sa spoljne strane, je pokriven slojem proteina i ugljenih hidrata. Proteini nisu definisani, a mogu biti strukturni ili enzimi. Unutar vlakna se nalazi sarkoplazma, odnosno citoplazma mišićne ćelije. Zavisno od tipa mišićnih vlakana i količina sarkoplazme veoma varira. U mišićnom vlaknu sa više sarkoplazme ima i više mitohondrija, kapljica masti i granula glikogena kao i mioglobina, pa su ona crvene boje. Takvih mišićnih vlakana ima više u mišićima koji obavljaju naporan fizički rad. U mišićnim vlaknima sa manje sarkoplazme ima više miofibrila, osnovnih funkcionalnih organela mišićnog vlakna, pa su ona svetlije boje. Takvih vlakana više ima u mišićima koji imaju statičku funkciju. Jedra su smeštena periferno uz sarkolemu, a u dužim vlaknima ih može biti nekoliko stotina. Duguljastog su oblika, dužine 8 – 10  $\mu\text{m}$ , i položena su u pravcu duže osovine vlakna. Glavne komponente jedara su hematin, koji sadrži mnogo DNK i jedarce, bogato sa RNK. Unutar sarkoplazme, oko svakog miofibrila se nalazi splet spljoštenih mehurića i cevčica nazvan sarkoplazmatski retikulum koji se nadovezuje na unutrašnju membranu sarkoleme, a presudan je za kontrolu mišićne kontrakcije. Mišići koji se

brže kontrahiraju imaju naročito obiman sarkoplazmatski retikulum, što ukazuje na njegovu važnost u tom procesu. Mitohondrije su organele smeštene u blizini jedara i oko miofibrila u visini Z-membrane. Obavijene su dvostrukom membranom, dok se u sredini nalazi matriks. Funkcija mitohondrija je da kroz Krebsov ciklus i respiratorni lanac proizvedu energiju i da je putem fosforilacije pretvore u fosforna jedinjenja bogata energijom (ATP). U sarkoplazmi mišićnih vlakana nalaze se još i lizozomi, koji sadrže hidrolitičke enzime (katepsine), peroksizomi (sadrže enzime acil oksidazu i katalazu), kao i ribozomi u kojima se sintetisu proteini. Unutar mišićnih vlakana mogu se videti granule glikogena i kapljice masti, odnosno inkluzije smeštene između miofibrila (Rahelić, 1987; Rede i Petrović, 1997; Honikel, 1999; Lawrie i Ledward, 2006; Tomović, 2009).

Miofibrili su funkcionalne organele mišićnih vlakana koje imaju najznačajniju ulogu prilikom kontrakcije mišića. Položeni su pojedinačno ili u snopovima, paralelno sa osovinom vlakna (dužom osom) i pružaju se celom dužinom ćelije. U skeletnim mišićima su veoma zastupljeni, a s obzirom na veliki broj pojedinačnih miofibrila (do 2000 u jednom vlaknu) i promer od 1 do 2  $\mu\text{m}$ , ove organele zauzimaju čak do 90% ukupne zapremine ćelije. Miofibrili su izgrađeni od miofilamenata raspoređenih u dva susedna segmenta, koji se zbog različitih refraktivnih osobina pod mikroskopom vide kao svetle i tamne pruge (Slika 2.24.c). U tamnom, anizotropnom ili A-segmentu se nalaze debeli (miozinski) miofilamenti, dok se duž svetlog, izotropnog ili I-segmenta pružaju tanki (aktinski) miofilamenti koji ulaze u tamni A-segment između debelih miofilamenata. Na sredini I-segmenta se nalazi tamna pruga, Z-linija, u kojoj se spajaju tanki miofilamenti. U sredini A-segmenta je nešto svetlija zona, H-pruga, podeljena po sredini tamnom M-linijom. U tom delu A-segmenta nema tankih miofilamenata. Deo miofibrila između dve Z-membrane, koji obuhvata dve polovine I-segmenta i jedan A-segment između njih naziva se sarkomera, a njena dužina u stanju mirovanja iznosi 2 do 3  $\mu\text{m}$  (Slike 2.24.d i 2.25). Susedni miofibrili se međusobno povezuju u visini Z-linije preko takozvanih intermedijarnih filamenata, a ove organele koje leže periferno, u blizini sarkoleme, vezuju se i za strukture koje se nalaze u samoj ćelijskoj membrani, tzv. kostamere. Svaki miofibril sadrži oko 1500 debelih i dvostruko više tankih miofilamenata. Odnos debelih i tankih miofilamenata u A-segmentu je stalan, tako da je oko svakog debelog pravilno raspoređeno 6 tankih, a oko svakog tankog nalaze se po 3 debela miofilamenta. U pitanju su veliki polimerizovani molekuli odgovorni za mišićnu kontrakciju. Prilikom te pojave tanki miofilamenti se uvlače između debelih, pa se na taj način dužina sarkomere može skratiti za oko 0.7  $\mu\text{m}$ . Pored debelih i tankih miofilamenta u strukturoj

građi sarkomere učestvuje i posebna treća grupa filamenata, tzv. "gap" ili međuprostorni filamenti, koji su strukturni oslonac sarkomere i drugih kontraktilnih elemenata. Ovi filamenti najverovatnije predstavljaju davno uočene elastične elemente mišića, ali je njihova struktura i građa dugo bila nepoznata. Danas se zna da su gap filamenti građeni od titina i nebulina, proteina koji se zajedno sa desminom ponekad označavaju i kao miofibrilarno/citoskeletni (Rede i Petrović, 1997; Honikel, 1999; Robson i sar., 2004; Lawrie i Ledward, 2006; Tomović, 2009; Huff-Lonergan, 2010).



Slika 2.25. Elektronmikrograf dela miofibrila sa tri sarkomere  
(<http://www.ks.uiuc.edu/Research/z1z2/>)

### 2.3.2. PROTEINI MIŠIĆA

Kao što je već napomenuto, proteini predstavljaju primarnu gradivnu i funkcionalnu komponentu mišića. U tabeli 2.1. su navedeni osnovni mišićni proteini koji su na osnovu rastvorljivosti, građe, funkcije i zastupljenosti u mišiću podeljeni u tri osnovne grupe: miofibrilarni – proteini miofibrila rastvorljivi u koncentrovanim rastvorima soli (jonske jačine veće od 0,3) čine oko 60% ukupnih proteina mišića, sarkoplazmatski – proteini sarkoplazme rastvorljivi u vodi (albumini) ili razblaženim rastvorima soli (globulini) čine oko 30% ukupnih proteina mišića i vezivnotkivni – nerastvorni proteini koji čine oko 10% ukupnih proteina (Rede i Petrović, 1997; Honikel, 1999; Lawrie i Ledward, 2006).

Tabela 2.1. Sastav proteina skeletnog mišića odraslog sisara nakon *rigor mortis*-a, a pre degradativnih promena *post mortem* (Lawrie i Ledward, 2006)

Proteini mišića	Udeo u mišiću (%)
<b>1. Miofibrilarni</b>	<b>11,5</b>
miozin <sup>1</sup> (H- i L-meromiozin i nekoliko frakcija lakog lanca)	5,5
aktin <sup>1</sup>	2,5
konektin (titin)	0,9
protein N2 linije (nebulin)	0,3
tropomiozini	0,6
troponin C, I i T	0,6
$\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ aktinin	0,5
miomezin (protein M-pruge) i C-protein	0,2
desmin, filamin, F- i I-proteini, vinkulin itd.	0,4
<b>2. Sarkoplazmatski</b>	<b>5,5</b>
gliceraldehid fosfat dehidrogenaza	1,2
aldolaza	0,6
kreatin kinaza	0,5
drugi glikolitički enzimi	2,2
mioglobin	0,2
hemoglobin i drugi neodređeni ekstracelularni proteini	0,6
<b>3. Proteini vezivnog tkiva i organela</b>	<b>2,0</b>
kolagen	1,00
elastin	0,05
mitohondrijalni i sl. (uključujući citochrome c i nerastvorljive enzime)	0,95

<sup>1</sup>Aktin i miozin su vezani u aktomiozinski kompleks nakon *rigor mortis*-a

### 2.3.2.1. MIOFIBRILARNI PROTEINI – ULTRASTRUKTURA MIOFIBRILA

Poprečna prugavost skeletnih mišića potiče od ultrastrukturne građe miofibrila, odnosno od dve vrste filamenata koji su unutar ovih cilindričnih organela specifično povezani stvarajući naizmenično svetle i tamne pruge. Kao što je već objašnjeno, unutar tamnih pruga dominiraju debeli, a u svetlim tanki filamenti. Sarkomera je struktura između dve Z-linije, i predstavlja gradivnu jedinica miofibrila. Od ukupnog broja sarkomera zavisi dužina miofibrila. Savremenim analitičkim tehnikama je utvrđeno da strukturu sarkomere gradi čak 65 različitih proteina, a svakako najznačajniji su miozin i aktin, koji su dominantni proteini debelih i tankih miofilamenata (Rede i Petrović, 1997; Huff-Lonergan, 2010).

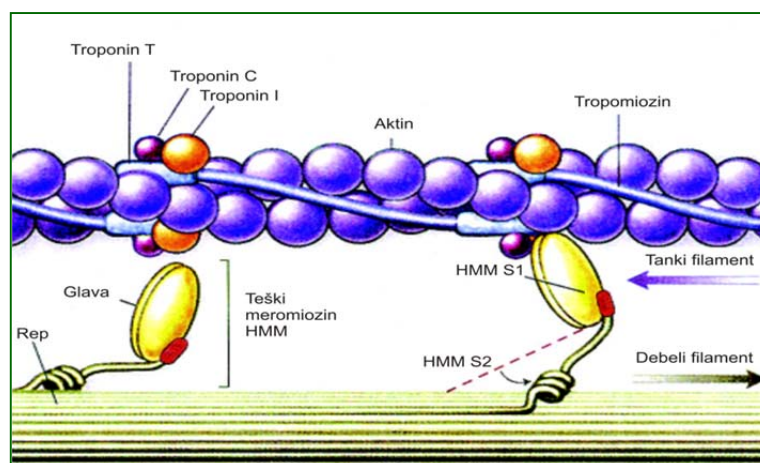


Debeli (miozinski) miofilamenti su izgrađeni od oko 200 - 300 molekula miozina zajedno sa C-proteinom i M-proteinom. Miozin je najzastupljeniji miofibrilarni (kontraktilni) protein u skeletnom mišiću i čini oko 50% ukupnih proteina miofibrila (Tabela 2.1). Njegova molekulska masa iznosi oko 470 - 500 kDa. U pitanju je negativno naelektrisan protein sa izoelektričnom tačkom pri vrednosti pH 5,3-5,4. Rastvorljiv je u koncentrovanim rastvorima soli jonske jačine iznad 0,3. Molekul miozina se odlikuje velikom asimetrijom i odnosom dužine i dijametra od oko 100 : 1. Svaki molekul se sastoji od dve identične podjedinice, a svaka jedinica od repa (laki meromiozin), vrata (teški meromiozin) i glave (teški meromiozin). Dejstvom proteolitičkog enzima tripsina molekul miozina se prvobitno cepa na rep i glavu sa vratom. Rep se još naziva laki (light) meromiozin (LMM), a vrat i glava teški (heavy) meromiozin (HMM). Daljom proteolitičkom fragmentacijom HMM se cepa na glavu molekula, ili supfragment HMM S1 i vrat molekula ili supfragment HMM S2. Tokom formiranja debelog miofilamenta molekule miozina se slažu uzdužno jedna pored druge i to tako da se u sredini filameta spajaju repovi molekula koji se dalje slažu u suprotnim pravcima i tako formiraju filament. Elektronskom mikroskopijom je utvrđeno da se po površini debelih miofilameta nalaze mali, pravilno raspoređeni izdanci koji su upravljani prema tankim miofilamentima, to su u stvari glave molekula miozina (Slika 2.24). U predelu repa, koji ima formu alfa heliksa, molekul miozina ima dosta kiselih (asparaginska i glutaminska kiselina) i baznih (histidin, arginin i lizin) aminokiselinskih jedinica, tako da na postranim lancima ima i dosta pozitivno i negativno naelektrisanih grupa. Zbog toga je rep molekula deo koji uslovljava veliku (75 – 90%) sposobnost vezivanja vode u mišiću. Suprotno tome, ta sposobnost vrata molekula je mala, a glave još manja (Rede i Petrović, 1997). Od velikog fiziološkog značaja je i činjenica da miozin nije samo strukturni protein, nego deo molekula koji se označava kao glava ili supfragment HMM S1 poseduje ATP-aznu aktivnost, odnosno učestvuje u regulaciji razgradnje adenozin trifosfata (ATP) na adenozin difosfat (ADP) i anorganski fosfor (P), pri čemu se oslobađa energija potrebna za kontrakciju mišića (Rede i Petrović, 1997; Huff-Lonergan, 2010; Lawrie i Ledward, 2006; Puolanne i Halonen, 2010).

M-pruga se nalazi u središnjem delu miozinskog filameta gde povezuje repove molekula miozina i na taj način održava raspored miozinskih molekula u debelom filamentu. Po Knappeis-Carlsen-ovom (1962) modelu, M-pruga se sastoji iz dve strukturne komponente: M-filameta, koji su položeni paralelno sa molekulima miozina i M-mostova, koji su raspoređeni pod pravim uglom na miozin i povezuju M-filamente sa miozinom u predelu M-

pruge. M-pruga je izgrađena od najmanje dve vrste M-proteina, i to  $M\alpha$  molekulske mase 193 kDa i  $M\beta$  molekulske mase 182 kDa. Jedna od ove dve komponente M-pruge (miomezin) promovira bočnu polimerizaciju LMM-a i vezuje kreatin kinazu za M-liniju, za koju se smatra da je najvažnija komponenta M-mosta. Takođe, veruje se da su M-proteini esencijalni pri kontroli polarizacije miozinskih molekula u svakoj polovini debelog miofilamenta (Rede i Petrović, 1997; Lawrie i Ledward, 2006).

Pretpostavlja se da C-protein obavija miozinski filament povezujući molekule miozina u snop, stvarajući na taj način strukturu debelog miofilamenta. Duž debelog – miozinskog miofilamenta, sa svake strane H-pruge nalazi se po devet "obruča", odnosno na jednom debelom miofilamentu ukupno 18 C-proteina sa periodicitetom ponavljanja od oko 40 nm (Rede i Petrović, 1997).



Slika 2.26. Šematski prikaz ultrastrukture i građe miofibrila (Seidman i Seidman, 2001)

Tanki miofilamenti su građeni od 300 do 400 molekula aktina i po 40 do 60 molekula tropomiozina i troponina. U građi tankih miofilamenata učestvuju i  $\alpha$ - i  $\beta$ -aktinin, vinkulin i filamin. Aktin je drugi najzastupljeniji (kontraktilni) protein miofibrila, koji čini oko 20% proteina ovih organela (Tabela 2.1) Aktin postoji u dve forme. G-aktin je globularni protein molekulske mase oko 42 kDa, koji u prisustvu soli i malih količina ATP-a polimerizuje gradeći filament. Dva tako dobijena filamenta (lanca globula) uvijaju se u formu "super heliksa" gradeći F-aktin, koji ulazi u interakciju sa miozinom (Slika 2.26). Izoelektrična tačka ovog proteina je pri vrednosti pH 4,7. Aktin se odlikuje malom sposobnošću vezivanja vode jer sadrži mnogo prolina i nepolarnih aminokiselina, a samim tim i mali broj slobodnih postranih naboja (Rede i Petrović, 1997; Lawrie i Ledward, 2006; Huff-Lonergan, 2010).

Druga dva proteina koja učestvuju u izgradnji osnovne strukture tankog filamnta su tropomiozin i troponin (Slika 2.26). Tropomiozin je drugi najzastupljeniji protein tankih filamenata, i čini oko 7% ukupnih miofibrilarnih proteina. Izoelektrična tačka ovog proteina je pri pH 5,1. Molekul tropomiozina je fibrilarne građe i sastoji se od dva polipeptidna lanca (alfa  $\approx$ 34 kDa i beta  $\approx$ 36 kDa) međusobno povezana u formu duplog heliksa. Dva ovakva heliksa obmotavaju F-aktin, pri čemu je u žljebovima F-aktina tropomiozin povezan sa svakim molekulom G-aktina. Usled uloge vezane za stabilizaciju tankog filamnta nativni molekul tropomiozina spada u grupu „regulatornih“ proteina. Tropomiozin ima visoko organizovanu strukturu, sadrži dosta kiselih i baznih aminokiselina, i ne sadrži prolin. Troponin je proteinski kompleks koji se sastoji od tri podjedinice: troponin I (23 kDa, troponin C (18 kDa) i troponin T (37 kDa). Molekule troponina su globularnog oblika i ugrađene su na površini heliksa aktina u pravilnim razmacima sa periodicitetom ponavljanja od 40 nm. Troponin C ima sposobnost vezivanja kalcijuma oslobođenog iz sarkoplazmatskog retikuluma. To je najkiselija troponin podjedinica koja sadrži veliku količinu asparaginske i glutaminske kiseline. Troponin C gradi ekvimolarni kompleks sa troponinom I, koji ima sposobnost inhibicije aktivnosti ATP-aze miozina, odnosno interakcije između aktina i miozina. Troponin I sadrži cistein i dosta hidrofobnih ostataka. Troponin T, ili troponin vezujuća podjedinica, vezuje druge dve podjedinice za tropomiozin, a time i za tanki miofilament. Sadrži dosta arginina i lizina. Dakle, zajednička akcija troponina i tropomiozina, uslovljena povećanjem koncentracije kalcijumovih jona u sarkoplazmi, reguliše interakciju aktina i miozina, a time i proces kontrakcije (Rede i Petrović, 1997; Lawrie i Ledward, 2006; Huff-Lonergan, 2010; Puolanne i Halonen, 2010).

$\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  i eu-aktinin su proteini koji regulišu fizičko stanje aktina.  $\alpha$ -aktinin je globularni protein sastavljen od dve podjedinice, čije molekulske mase najverovatnije iznose  $\approx$ 100 i 210 kDa. Smatra se da deluje kao „cementirajuća“ supstanca Z-linije, a takođe promovise lateralnu asocijaciju F-aktina.  $\beta$ -aktinin je globularni protein lociran na slobodnom kraju aktinskih miofilamenata, a njegova verovatna uloga je da prevenira njihovo međusobno vezivanje i inhibira polimerizaciju G-aktina.  $\gamma$ -aktinin, takođe inhibira polimerizaciju aktina. eu-aktinin stupa u interakciju kako sa aktinom, tako i sa  $\alpha$ -aktininom (Rede i Petrović, 1997; Lawrie i Ledward, 2006; Toldrá i Reig, 2006).

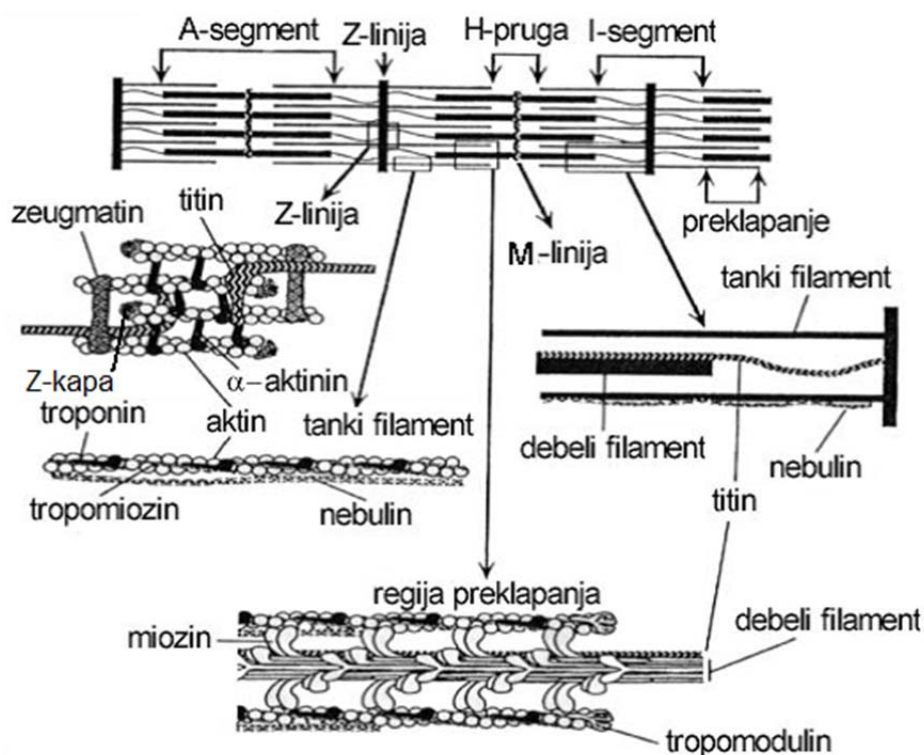
Kako je već napomenuto, pored debelih i tankih miofilamnta u strukturnoj građi sarkomere učestvuje i treća grupa filamenata, tzv. "gap" ili međuprostorni filamenti, koji su građeni od titina i nebulina. Elastični protein konektin, koji ulazi u sastav ovih filamenata je

otkriven i opisan još 1977. godine. Konektin je kasnije nazvan titin, a taj naziv je ustaljen u naučnoj literaturi. Titin je najvažniji protein gap filamenata, te se ove tvorevine često nazivaju i T-filamenti. Pored činjenice da je titin najveći protein pronađen u tkivima sisara, veličine oko 3 MDa, on je u isto vreme i treći najzastupljeniji protein miofibrila ( $\approx 10\%$ ) (Tabela 2.1). Dužina molekula titina se kreće od 2 do 2,2  $\mu\text{m}$ , te se sa lakoćom proteže, duž debelih filamenata, polovinom sarkomere, odnosno od M-linije (C-kraj) do Z-linije (N-kraj), čineći njen integralni deo (Slika 2.27). Veoma je elastičan, a iako ne učestvuje direktno u procesu kontrakcije, titin obezbeđuje održavanje strukturnog integriteta sarkomere i miofibrila uopšte. Tokom razvoja miofibrila titin nastaje u najranijoj fazi, delujući kao neka vrsta obrasca, odnosno „molekulskog lenjira“, koji diktira dalju izgradnju ovih organela. Nebulin je drugi megaprotein gap filamenata (MW 600-900 kDa), koji čini oko 5% miofibrilarnih proteina. Prvobitno se verovalo da je nebulin komponenta N2 linije uz granicu A-I segmenta, a kasnije je utvrđeno da se ovaj protein vezuje duž tankog filameta (Slika 2.27). Takođe, postoji hipoteza da nebulin ima regulatornu funkciju tokom mišićne kontrakcije, a da jedan njegov deo ima sposobnost vezivanja za aktin, miozin i kalmodulin, te da usporava klizanje aktinskih filamenata preko miozina. Nebulin je jako nerastegljiv protein pa se veruje da tokom izgradnje miofibrila, poput titina, deluje kao lenjir na osnovu kojeg se definiše dužina tankih filamenata (Rede i Petrović, 1997; Root i Wang, 2001; Clark i sar., 2002; Lawrie i Ledward, 2006; Huff-Lonergan, 2010).

Već je navedeno da protein desmin, pored titina i nebulina (gap proteini), spada u grupu miofibrilarno/citoskeletnih proteina koji održavaju strukturni integritet sarkomere, miofibrila pa i same mišićne ćelije. Desmin je intermedijarni fibrilarni protein, lokalizovan na periferiji Z-diska, koji u visini Z-membrana povezuje susedne miofibrile međusobno ali i sa drugim ćelijskim strukturama, uključujući i sarkolemu (Rede i Petrović, 1997; Huff-Lonergan, 2010).

Iz prethodnog teksta se može zaključiti da Z-membrana predstavlja veoma važnu tvorevinu kako za strukturu miofibrila tako i za strukturu čitavog mišićnog vlakna. Osnovno objašnjenje njene građe, koje su dali Knappeis i Carlsen pre pola veka, do skoro je bilo aktuelno. Naime, na elektronskom mikroskopu Z-membrana se vidi kao cik-cak linija, te su navedeni autori tvrdili da se tanki miofilamenti pred Z-membranom cepaju na četiri tanka Z-filamenta, koji koso prolaze na drugu stranu membrane i tamo se svaki pojedinačno spaja sa nova tri Z-filamenta gradeći tanki filament. Međutim, u novije vreme ova hipoteza je potisnuta, s obzirom da je utvrđeno da su aktin,  $\alpha$ -aktinin, zeugmatin i titin osnovni proteini

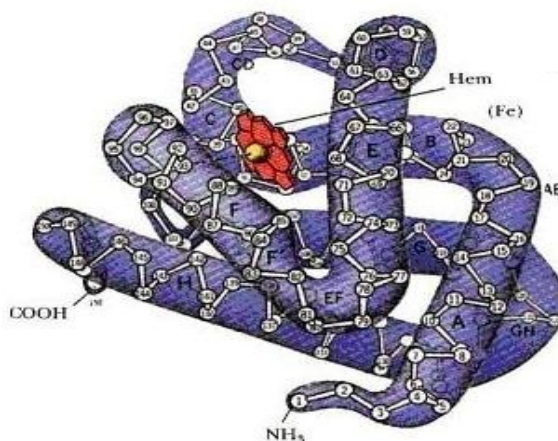
koji su odgovorni za strukturu Z-membrane. Naime, krajevi tankih miofilamenata, susednih sarkomera, završavaju u Z-membrani gde bivaju pokriveni proteinom Z-kapa i međusobno povezani  $\alpha$ -aktininom, zeugmatinom i tropomodulinom. Takođe, N-kraj molekula titina završava u Z-membrani gde se vezuje za kraj tankog miofilamenta iz susedne sarkomere (Slika 2.27). U novije vreme se spominju i vinkulin, filamin, sinemin, C, H, X, F i I proteini, koji su smešteni u Z-membrani i doprinose njenoj visokoj gustini. Filamin je veliki protein (MW 245 kDa) lokalizovan na periferiji Z-diska, koji je najverovatnije asociran sa intermedijarnim filamentima desmina (Rede i Petrović, 1997; Lawrie i Ledward, 2006; Toldrá i Reig, 2006; Huff-Lonergan, 2010).



Slika 2.27. Šematski prikaz položaja titina i nebulina u odnosu na debele i tanke miofilamente, te prikaz interakcije tankih (aktinskih) miofilamenata sa titinom i drugim proteinima u Z-membrani (Lawrie i Ledward, 2006)

### 2.3.2.2. SARKOPLAZMATSKI PROTEINI

Oko 30% ukupnih proteina mišića se nalazi u sarkoplazmi mišićne ćelije, te se nazivaju sarkoplazmatski. Ovu grupu čini preko 50 različitih proteina, a većina od njih su metabolički enzimi (mitohondrijalni, lizozomski, mikrozosmski, jedarni ili slobodni u ćelijskoj tečnosti) i mioglobin. Neki od ovih enzima imaju veoma značajnu ulogu u postmortalnom mišiću prilikom prerade, ali će o tome više reći biti kasnije. U mišiću se takođe može naći i manja količina hemoglobina koja potiče iz zaostale krvi nakon procesa iskrvarenja. Mioglobin (Mb) je najznačajniji sarkoplazmatski protein, odgovoran za karakterističnu crvenu boju mesa. Spada u grupu albumina, jer je rastvoran u vodi, a funkcija mu je reverzibilno vezivanje kiseonika. Za vreme života životinje Mb služi kao depo kiseonika za potrebe metabolizma mišićnog vlakna i funkcionalno je povezan sa hemoglobinom. Sadržaj mioglobina u mišiću kreće se u rasponu od 0.02 do 0.46%, a više faktora utiče na visinu sadržaja ovog pigmenta u mišićnom tkivu, od kojih su najznačajniji vrsta i starost životinje. Mioglobin je hromoproteid (MW 17 kDa) sastavljen od proteinskog lanca globina i prostetske grupe hema (Slika 2.28). Peptidni lanac sadrži 153 ostatka aminokiselina, a u zavisnosti od vrste životinje sastav varira, što uzrokuje i razliku u IET. Lanac je formiran kao desnosmerni  $\alpha$ -heliks. Izuvijan je u osam segmenata, a helični segmenti se smenjuju sa neheličnim. Na površini molekula nalaze se polarane grupe, dok je unutrašnjost lanca nepolarna. U tom delu molekula, za imidazol ostatak histidina, vezan je hem koji sadrži atom gvožđa, te može vezati kiseonik (Rede i Petrović, 1997; Lawrie i Ledward, 2006; Toldrá i Reig, 2006).



Slika 2.28. Šematski prikaz molekula mioglobina (www2.dq.fct.unl.pt)

### 2.3.2.3. PROTEINI VEZIVNOG TKIVA

Kolagen i elastin, dva osnovna vezivnotkivna proteina, čine oko 1% mase mišića, odnosno oko 6% ukupnih proteina mišićnog tkiva (Tabela 2.1) (Lawrie i Ledward, 2006). Unutar mišića je najviše zastupljeno rastresito vezivno tkivo čija vlakna su dominantno izgrađena od kolagena. Njegova osnovna karakteristika je da formira nerastvorljiva vlakna sa vrlo dobrim mehaničkim svojstvima. Kolagena vlakna nastaju povezivanjem molekula tropokolagena, koji grade najpre mikrofibrile, zatim fibrile i, najzad, vlakna (Vuković, 2006). Dakle, osnovna molekulska jedinica kolagena je tropokolagen koji ima oblik štapića dužine oko 300 nm i dijametra 1,5 nm. To je najduži poznat protein, molekulske mase oko 300 kDa. Molekul tropokolagena je sastavljen od tri polipeptidna lanca. Svaki lanac je pojedinačno uvrnut u  $\alpha$ -heličnu konformaciju, a sva tri zajedno čine trostruki heliks ili "super" heliks, odnosno molekule tropokolagena koje se dalje međusobno povezuju gradeći kolagen i kolagena vlakna. Postoji više tipova kolagena (12 poznatih) koji se međusobno razlikuju po tome što sadrže različite polipeptidne lance (do 10  $\alpha$ -lanaca). Tip I kolagena je osnovna gradivna komponenta epimizijuma i perimizijuma, koji obavijaju skeletni mišić i snopove mišićnih vlakana, dok je kolagen tipa III, IV i V sastavni deo endomizijuma (Slika 2.24). Sa starosti životinje raste broj unakrsnih veza između kolagenih vlakana što se odražava na povećanje tvrdoće mesa dobijenog klanjem zrelijih grla stoke. Elastin je drugi vezivnotkivni protein zastupljen u mnogo manjem sadržaju od kolagena. Najčešće se nalazi u krvnim sudovima, nervima, tetivama i ligamentima (Rede i Petrović, 1997; Toldrá i Reig, 2006).

### 2.3.3. POSTMORTALNI BIOHEMIJSKI PROCESI I PROMENE U MIŠIĆU

Tokom života u mišiću se odigrava veliki broj hemijskih i biohemijskih reakcija. Neke od ovih reakcija se nastavljaju i nakon smrti životinje, dok druge bivaju izmenjene ili zaustavljene usled prestanka dotoka kiseonika, promene vrednosti pH, nastanka inhibitornih jedinjenja, povećanja koncentracije različitih jona u sarkoplazmi i drugih promena koje nastaju u mišiću *post mortem*. Sve ove reakcije i promene nastaju u prvih nekoliko sati nakon klanja (najduže 48h) i odgovorne su za konverziju mišića u meso (Rede i Petrović, 1997; Lawrie i Ledward, 2006; Toldrá i Reig, 2006).

Najvažniji izvor energije žive mišićne ćelije, ključan za njen opstanak i normalno funkcionisanje, je adenzin trifosfat (ATP). Stoga, mišićno vlakno teži da održi visok nivo produkcije ATP-a kako za života, tako i u prvim časovima *post mortem*. Kako bi to postigla

ćelija je razvila niz mehanizama produkcije, odnosno regeneracije molekula ATP-a, uz korišćenje odgovarajućih prekursora poput glikogena, lipida i fosfokreatina, ili energetskih izvora iz krvotoka (glukoza, lipidi). Za života ATP se u prisustvu kiseonika disanjem (respiracijom) resintetiše iz adenzin difosfata (ADP) i energije koja nastaje pri oksidaciji mišićnog glikogena ili u nekim slučajevima masnih kiselina. Kada nastupi smrt životinje krvotok se zaustavlja, a time i dostavljanje nutrienata i kiseonika ćelijama. Takođe, zaustavlja se i uklanjanje produkata metabolizma ćelije. Najznačajnija posledica iskrvarenja je svakako prestanak snabdevanja mišića kiseonikom usled čega se njegove rezerve ubrzano troše, te prestaju oksidativni, a prednost postepeno preuzimaju anoksidativni procesi. Ta promena toka biohemijskih procesa izazvana prestankom snabdevanja kiseonikom predstavlja pomenutu konverziju mišića u meso, odnosno hranu (Rede i Petrović, 1997; Honikel, 1999; Lawrie i Ledward, 2006; Toldrá i Reig, 2006; Huff-Lonergan, 2010).

Kako je već navedeno, u mišiću prevedenom klanjem životinje u meso, nastavljaju se biohemijski procesi izazvani endogenim enzimima mišićnog tkiva. Osnovna karakteristika ovih procesa je da se odvijaju pod anaerobnim uslovima, te da intenzitet i priroda tih procesa uslovljavaju promene tehnoloških i jestivih svojstava mesa. Tokom prve faze tih procesa, koja započinje odmah nakon prestanka dotoka kiseonika u mišić, dolazi do razgradnje ATP-a, a zatim se aktiviraju procesi koji pod anaerobnim uslovima, na račun zaostalih metabolita treba da nadoknade razgrađeni ATP. To je u prvom redu glikoliza, proces tokom kojeg usled delovanja glikolitičkih enzima dolazi do razgradnje glikogena, te nastanka ATP-a (2 molekula ATP iz 1 molekula glukoze) i mlečne kiseline, koja se akumulira. Ovaj proces se relativno brzo zaustavlja usled potrošnje rezervi glikogena ili usled inaktivacije enzima izazvane nakupljanjem mlečne kiseline i padom vrednosti pH u mišiću (5,3 - 5,5). Koncentracija ATP-a naglo opada, te dolazi do aktivacije miofibrilarne ATP-aze, pod čijim uticajem započinje razgradnja preostale količine ATP-a ( $1,6 \times 10^{-3}$  mol) vezanog za glave molekula miozina, a to uslovljava ireverzibilnu kontrakciju mišića, odnosno interakciju tankih i debelih miofilamenata, i formiranja aktomiozina, što mišiće čini skraćenim i tvrdim. Ova pojava se naziva mrtvačka ukočenost ili *rigor mortis*. Takođe, padom vrednosti pH dostiže se izoelektrična tačka miozina ( $\approx 5,4$ ), kada je broj pozitivnih i negativnih naelektrisanja na polipeptidnim lancima proteina jednak, te dolazi do njihovog privlačenja i smanjenja prostora između miofibrila, odnosno istiskivanja vode. Dakle, iscrpljivanjem rezervi ATP-a mišić ulazi u stanje punog rigora, što je praćeno značajnom promenom tehnoloških svojstava, odnosno promenom vrednosti pH, sposobnosti vezivanja vode, boje i teksture. Prva faza, u zavisnosti



od vrste stoke za klanje, traje od 24 do 48 sati (Rahelić, 1987; Rede i Petrović, 1997; Lawrie i Ledward, 2006; Huff-Lonergan, 2010).

U drugoj, sporijoj fazi postmortalnih biohemijskih promena, odvija se proces zrenja tokom kojeg čvrsto i tvrdo meso u fazi punog rigora lagano dobija poželjna jestiva svojstva. Naime, tokom skladištenja ohlađenog mesa dolazi do proteolitičkih promena koje dovode do narušavanja strukture miofibrila, usled čega meso omekšava. Kako je već napomenuto, postizanjem krajnjeg pH od oko 5,3 - 5,5 inaktiviraju se glikolitički enzimi, a istovremeno aktiviraju neki proteolitički enzimi mišićnog tkiva, pod čijim uticajem se dominantno odvija proces zrenja. Takođe, ne treba zanemariti ni uticaj proteolitičkih enzima mikroorganizama (Rede i Petrović, 1997; Honikel, 1999; Huff-Lonergan, 2010).

Tokom zrenja mesa aktivnošću pomenutih enzima dolazi do degradacije nekoliko proteina ključnih za strukturni integritet miofibrila, a kao posledica se javlja omekšavanje mesa:

*Titin* – s obzirom na prethodno navedenu ulogu ovog megaproteina sasvim je razumljivo da njegovom postmortalnom razgradnjom, tokom procesa zrenja, dolazi do slabljenja longitudinalne strukture sarkomere i omekšavanja mesa. Glavni produkti degradacije titina, utvrđeni SDS-PAGE analizom, su polipeptidi molekulske mase 2400 kDa i 1200 kDa (Melody i sar., 2004). Veći od ova dva polipeptida se označava kao T<sub>2</sub>, i sam može biti dalje razgrađen nakon dužeg perioda postmortalnog zrenja. Drugi polipeptid molekulske mase 1200 kDa sadrži deo molekula titina koji se proteže od Z-linije do N<sub>2</sub> linije u I-segmentu (Rede i Petrović, 1997; Lawrie i Ledward, 2006; Huff-Lonergan, 2010).

*Nebulin* – vrlo je moguće da postmortalna degradacija ovog velikog proteina utiče na interakciju aktina i miozina, usled čega dolazi do poremećaja redosleda i odnosa debelih i tankih filamenata. Pozitivna korelacija između stepena degradacije nebulina i povećane nežnosti mesa je utvrđena iako još uvek nije potpuno poznata uzročno-posledična relacija ove dve pojave (Rede i Petrović, 1997; Melody i sar., 2004; Huff-Lonergan, 2010).

*Troponin T* – tokom perioda zrenja uočena je snažna veza između degradacije ovog proteina, nastanka polipeptida molekulske mase ≈30 kDa i nežnosti mesa. Razgradnjom troponina T nastaje više proteinskih fragmenata, ali su najznačajnije frakcije molekulske mase od oko 30 i 28 kDa. Cepanje nativnog molekula se dešava u N-terminalnom regionu bogatom glutaminskom kiselinom. Tokom dužih perioda zrenja, pored formiranja pomenutih frakcija, dolazi do nestanka intaktnog troponina T. S obzirom na funkciju ovog proteina u mišićnoj ćeliji i vezu sa ostalim proteinima tankog filamena, verovatno je da njegovom degradacijom

dolazi do poremećaja strukture aktinskih filamenata u I-segmentu, koji dovodi do fragmentacije miofibrila. Takođe, imajući u vidu da je troponin T deo kompleksa koji reguliše vezivanje aktin-miozin, moguće da njegova postmortalna razgradnja dovodi do promena vezanih za interakciju tankih i debelih miofilamenta. Bez obzira na mehanizam kojim troponin T, odnosno njegova hidroliza, utiče da meso postane mekše, evidentno je da pojava proteinskih frakcija molekulske mase  $\approx 30$  kDa predstavlja vredan indikator povećane nežnosti mesa (Lehman i sar., 2001; Huff-Lonergan, 2010).

*Desmin* – razgradnja ovog proteina tokom skladištenja ohlađenog mesa i pojava proteinske frakcije molekulske mase od  $\approx 38$  kDa, kao glavnog produkta tog razlaganja, je utvrđena od strane više autora (Melody et al. 2004). Degradacija intermedijarnih filamenata desmina, koji povezuju miofibrile međusobno ali i za ćelijsku membranu dovodi do gubitka adhezije između ovih organela i slabljenja Z-membrane, te najverovatnije utiče na povećanje nežnosti mesa. Međutim, ostaje da se utvrdi da li je ova degradacija desmina istinski povezana sa omekšavanjem mesa ili je samo indikator ukupne postmortalne proteolize (Rede i Petrović, 1997; Huff-Lonergan, 2010).

*Filamin* – kao što je već rečeno filamin je lokalizovan na periferiji Z-diska i vezan je za intermedijarne desminske filamente u tom regionu, te bi njegova razgradnja mogla dovesti do prekida nekih ključnih veza koje obezbeđuju odgovarajući bočni raspored miofibrila. Takođe, degradacijom ovog proteina mogla bi biti narušena i veza između miofibrila i sarkoleme. Hidrolizom filamina nastaje produkt vrlo slične molekulske mase od  $\approx 240$  kDa, koji se kreće u paru sa netaknutin molekulom, prilikom SDS-PAGE razdvajanja. U poređenju sa drugim mišićnim proteinima podaci koji se tiču uloge filamina u skeletnom mišiću, kako za života tako i u toku postmortalnog procesa zrenja, su veoma oskudni (Huff-Lonergan, 2010).

Razgradnja vezivnog tkiva, odnosno proteina koji čine vezivno tkivo takođe doprinosi omekšavanju mesa tokom zrenja. Naime, SDS-PAGE analizom je utvrđeno da tokom skladištenja mesa, dejstvom proteolitičkih enzima, dolazi do razgradnje kolagena tipa III (endomisijalni kolagen), što donekle utiče na omekšavanje mesa. Takođe, utvrđeno je da tokom zrenja dolazi do razgradnje proteoglikansa koji su asocirani sa kolagenim vlaknima endomisijuma i perimisijuma, a kao posledica te pojave dešava se razdvajanje kolagenih vlakana, te omekšavanje mišića (Rede i Petrović, 1997).

Dakle, kako je prethodno navedeno, tokom zrenja mesa aktivnošću endogenih enzima mišićnog tkiva, a potom i enzima mikroorganizama dešava se hidroliza proteina mesa, čiji rezultat je slabljenje miofibrilarne mreže i nastajanje jedinjenja koja učestvuju u stvaranju

karakterističnog ukusa i mirisa. S obzirom na značaj promena koje uzrokuju u postmortalnom mišiću, a od kojih u najvećoj meri zavisi tekstura i aroma mesa i proizvoda od mesa, u narednom poglavlju je dat detaljan pregled najznačajnijih proteolitičkih enzima i njihovih osobina.

### **2.3.4. ENZIMSKI SISTEM MIŠIĆA**

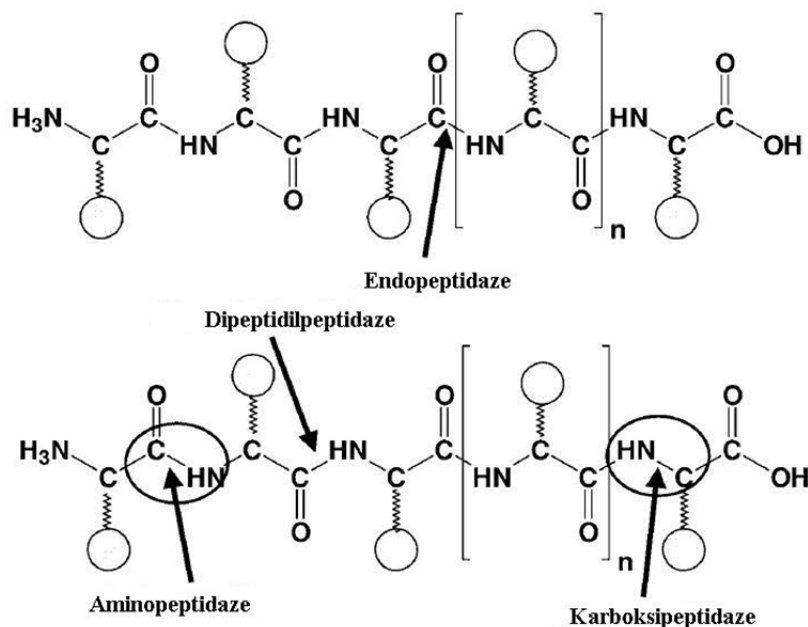
Mišić sadrži veliki broj različitih enzima koji su odgovorni za većinu biohemijskih promena uočenih tokom proizvodnje i prerade mesa (Toldrá, 2006a). Najznačajniji mišićni enzimi koji utiču na razgradnju proteina se prema mestu cepanja peptidnog lanca generalno mogu podeliti na endopeptidaze (endoproteinaze) i na egzopeptidaze (egzoproteinaze). Endopeptidaze katalizuju raskidanje peptidne veze unutar polipeptidnog lanca, dok egzopeptidaze katalizuju raskidanje peptidne veze terminalnih aminokiselina, uz nastanak malih peptida i slobodnih aminokiselina. Neki od ovih enzima se nalaze u lizozomima dok su drugi slobodni u sarkoplazmi ili vezani za membrane. Prema mehanizmu katalize sve proteinaze se dele u osam grupa: aspartat, cisteinske, glutaminske, metalo, asparaginske, serinske, treoninske i nepoznate (Rawlings i sar., 2006). U zavisnosti od mesta delovanja na polipeptidnom lancu (Slika 2.29) i produkata koji nastaju usled njihove aktivnosti proteolitički enzimi mišića su dobili odgovarajuća imena. Najvažniji proteolitički enzimi mišića i njihove karakteristike su navedeni u tabeli 2.2.

#### **2.3.4.1. ENDOPEPTIDAZE**

##### **Neutralne proteinaze - kalpaini**

Kalpaini su cisteinske endopeptidaze koje se nalaze u sarkoplazmi, a posebno su koncentrisane oko Z-linije i vezane su za kalpastatin, protein čija osnovna funkcija je da inhibira njihovu aktivnost (Allen i Goll, 2003). Optimalna aktivnost kalpaina se postiže pri neutralnoj vrednosti pH, a kada je pH niža od 6.0 ove proteinaze praktično prestaju da deluju. Obzirom da je za njihovu aktivaciju potrebno prisustvo  $\text{Ca}^{2+}$  jona ovi enzimi se često nazivaju i kalcijum zavisne proteinaze (Allen i Goll, 2003; Lawrie i Ledward, 2006; Toldrá, 2002, 2006a). Naime, za aktivaciju kalpaina 1 i 2 potrebna koncentracija jona  $\text{Ca}^{2+}$  iznosi 10–50  $\mu\text{M}$ , odnosno 0.3-1.0 mM, redom, dok kalpain 3 (p94) postaje aktivan pri koncentracijama  $\text{Ca}^{2+}$  nižim od mikromolarnog nivoa (Ono i sar., 2004). Kalpaini 1 i 2 su heterodimeri koji se sastoje od regulatorne podjedinice veličine  $\approx 30$  kDa, jednake za oba enzima, i katalitičke

podjedinice molekulske mase  $\approx 80$  kDa od koje zavisi potreban nivo  $\text{Ca}^{2+}$  jona za aktivaciju (Dutt i sar., 2002; Sentandreu i sar., 2002).

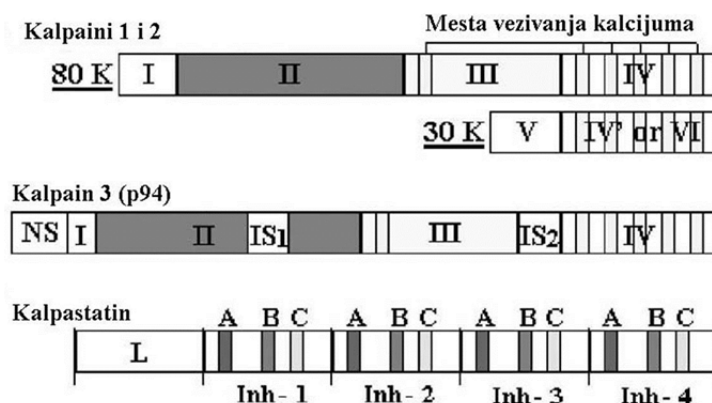


Slika 2.29. Mesto delovanja različitih tipova proteolitičkih enzima mišića (Toldrá, 2006a)

Kao što se na slici 2.30. može videti katalitička podjedinica kalpaina 1 i 2 se sastoji od četiri tipična domena, a svaki od njih ima odgovarajuću ulogu: Domen I - aktivacija autolize, Domen II - cisteinsko mesto katalize, Domen III - prekidač aktivacije i Domen IV - vezivanje kalcijuma. Regulatorna podjedinica se sastoji od N-terminalnog domena V i domena zaduženog za vezivanje jona kalcijuma koji se označava sa IV' ili VI. Struktura kalpaina 3 takođe sadrži domene I, II, III i IV, između kojih se nalaze specifični dodaci (NS, IS<sub>1</sub> i IS<sub>2</sub>). Molekul kalpastatina se sastoji od N-terminalnog domena L i četiri slična domena (Inh - 1, Inh - 2, Inh - 3, Inh - 4) koji deluju inhibitorno na aktivnost kalpaina (Sentandreu i sar., 2002).

Tabela 2.2. Proteolitički enzimi mišića i njihove karakteristike (Toldrá, 2004)

Enzim	Delovanje	Osnovni supstrat	Proizvod	Optimalan pH	Optimalna t (°C)	Stabilnost	Uticaj soli
Katepsin B	Endopeptidaza	Proteini	Polipeptidi	6.0	37	Godine	Inhibicija
Katepsin L	Endopeptidaza	Proteini	Polipeptidi	6.0	30	Godine	Inhibicija
Katepsin D	Endopeptidaza	Proteini	Polipeptidi	4.0	40	Meseci	Inhibicija
Katepsin H	Endopeptidaza	Proteini/Peptidi	Aminokiseline	6.8	37	Meseci	Inhibicija
Kalpain 1	Endopeptidaza	Proteini	Polipeptidi	7.5	25	Dani	Aktivacija
Kalpin 2	Endopeptidaza	Proteini	Polipeptidi	7.5	25	Dani	Aktivacija
Proteazom	Endopeptidaza	Proteini	Aminokiseline	7.5	25	Dani	-
TPP I	Egzozeptidaza	Polipeptidi	Tripeptidi	4.0	37	Meseci	Inhibicija
TPP II	Egzozeptidaza	Polipeptidi	Tripeptidi	7.0	30	Meseci	Inhibicija
DPP I	Egzozeptidaza	Polipeptidi	Dipeptidi	5.5	50	Meseci	Bez efekta
DPP II	Egzozeptidaza	Polipeptidi	Dipeptidi	5.5	65	Meseci	Inhibicija
DPP III	Egzozeptidaza	Polipeptidi	Dipeptidi	8.0	45	Meseci	Inhibicija
DPP IV	Egzozeptidaza	Polipeptidi	Dipeptidi	8.0	45	Meseci	Inhibicija
Metionil	Aminozeptidaza	Peptidi	Aminokiseline	7.5	40	Godine	Inhibicija
Alanil	Aminozeptidaza	Peptidi	Aminokiseline	6.5	37	Godine	Inhibicija
Leucil	Aminozeptidaza	Peptidi	Aminokiseline	9.0	45	Godine	Bez efekta
Piroglutamil	Aminozeptidaza	Peptidi	Aminokiseline	8.5	37	Nedelje	Inhibicija
Arginil	Aminozeptidaza	Peptidi	Aminokiseline	6.5	37	Meseci	Aktivacija
Karboksipeptidaza A	Karboksipeptidaza	Peptidi	Aminokiseline	Kisela sredina	-	-	-
Karboksipeptidaza B	Karboksipeptidaza	Peptidi	Aminokiseline	Kisela sredina	-	-	-



Slika 2.30. Šematski prikaz strukture kalpaina 1, 2, 3 i njihovog inhibitora kalpastatina (Sentandreu i sar., 2002)

Evidentno je da kalpaini selektivno razgrađuju titin, nebulin, desmin, tropomiozin, C-protein, M-protein, filamin, vinkulin i druge ključne proteine odgovorne za raspored i povezanost u okviru miofibrilarne strukture. Takođe, utiču na slabljenje veza  $\alpha$ -aktinina u Z-liniji, kao i na hidrolizu troponina T, usled koje nastaje peptid molekulske mase 30 kDa i još tri manja peptida. Međutim, kalpaini nisu u stanju da razgrade miozin, aktin,  $\alpha$ -aktinin i troponin C. Delovanjem kalpaina, prvenstveno, dolazi do razlaganja miofibrilarne strukture, te izdvajanja pojedinačnih molekula proteina i velikih peptida sa površine miofibrila, koji tako postaju dostupni za dalju degradaciju od strane proteazoma i lizozomskih katepsina (Toldrá, 2002; Allen i Goll, 2003; Lawrie i Ledward, 2006).

Kalpastatin je polipeptid molekulske mase između 50 i 172 kDa koji u mišićima životinje deluje kao inhibitor kalpaina dok nakon smrti životinje reguliše njihovu aktivnost svega nekoliko dana nakon kojih biva degradiran zahvaljujući autolizi. Nivo kalpastatina zavisi od vrste životinje, a zabeleženo je da ga u mišićima svinja ima najmanje (Toldrá, 2006a). Već je napomenuto da se kalpaini vezuju za kalpastatin, a ravnoteža ove reakcije takođe zavisi od koncentracije jona  $\text{Ca}^{2+}$  i vrednosti pH, pri čemu smanjenje vrednosti pH utiče na manje vezivanje kalpain/kalpastatin, odnosno smanjenje inhibitorne aktivnosti kalpastatina (Sentandreu i sar., 2002; Allen i Goll, 2003; Lawrie i Ledward, 2006).

Uloga kalpaina 3 (p94), specifičnog za skeletne mišiće, u postmortalnoj razgradnji proteina nije u potpunosti razjašnjena (Stevenson i sar., 2002; Geesink i sar., 2005), iako se zna da njegova aktivnost ne može biti potpuno redukovana pod uticajem kalpastatina, te čak može izazvati degradaciju ovog inhibitora kalpaina (Ono i sar., 2004). N-kraj polipeptidnog lanca kalpaina 3 je lokalizovan u Z-liniji i direktno se vezuje za  $\alpha$ -aktinin. Neki autori

smatraju da kalpain 3 (p94) štiti molekul titina od dejstva kalpaina 1 i 2 (Beckman i Spencer, 2008), a s obzirom da je aktivan čak i u odsustvu  $\text{Ca}^{2+}$  jona (Sorimachi i Suzuki, 2001) uloga kalpaina 3 se vezuje i za regulaciju aktivnosti kalpaina 1 i 2 (Goll i sar., 2003).

Molekuli kalpaina su veoma nestabilni u mišiću *post mortem*, te vrlo brzo dolazi do gubitka njihove enzimske aktivnosti. Zahvaljujući ovoj činjenici smatra se da kalpaini imaju mali uticaj na proces proteolize tokom dugotrajnih procesa kakav je proizvodnja suve šunke, dok niska vrednost pH tokom proizvodnje fermentisanih kobasica utiče na smanjenje aktivnosti ovih proteaza na minimum već nakon par dana proizvodnje (Toldrá i sar., 2001; Toldrá, 2002; 2006a; Bowker i sar., 2010). Međutim, njihov značaj za proces proteolize se ogleda u činjenici da su oni odgovorni za inicijalnu hidrolizu „gap“ filamenata u prvim časovima nakon klanja životinje, te utiču na razlaganje miofibrilarne strukture čineći njene strukturne delove (proteini, polipeptidi) dostupnim za druge proteolitičke enzime (Rede i Petrović, 1997; Allen i Goll, 2003).

### **Lizozomske proteinaze – katepsini**

U vlaknima skeletnih mišića životinja do sada je pronađeno osam lizozomskih proteinaza koje se nazivaju katepsini B, L, H, S, F, K, D i E. Najznačajniji među njima su katepsini B i L (cisteinske proteinaze koje imaju optimalnu aktivnost u redukujućoj sredini i koje su veoma aktivne pri pH od 5.5 do 6.5) i katepsin D (aspartatna proteinaza koja je najaktivnija u kiseljoj sredini pri pH od 3.0 do 5.0) (Sentandreu i sar., 2002; Lawrie i Ledward, 2006). Ovi enzimi imaju male molekulske mase (20-40 kDa) i lako penetriraju unutar miofibrilarne strukture. Katepsin H, koji je takođe cisteinska proteinaza sa optimalnom vrednosti pH 6.8, poseduje sposobnost da razlaže miozin (Allen i Goll, 2003), međutim on najčešće deluje kao aminopeptidaza (Toldrá, 2002). Endopeptidazna aktivnost katepsina H je slaba, a egzopeptidazna aktivnost je ograničena na slobodne aminokiselinske ostatke, odnosno na hidrolizu njihovih baznih ostataka. So predstavlja jak inhibitor katepsina H, te u prisustvu 6% soli ovaj enzim zadržava oko 35% svoje aktivnosti (Toldrá, 1992). Obzirom da su aktivni tokom čitavog perioda proizvodnje pršuta, katepsini B, H i L spadaju u red stabilnih enzima čija je rezidualna aktivnost, u iznosu od 5 - 10%, utvrđena čak nakon 15 meseci prerade (Toldrá i sar., 1993). Katepsini B, D i L imaju sposobnost da degradiraju različite proteine, i to titin, nebulin, miozin (laki i teški meromiozin), aktin, tropomiozin, C-protein,  $\alpha$ -aktinin i troponin T i I, ali NaCl delimično inhibira njihovu aktivnost (Toldra i sar., 1992; Allen i Goll, 2003; Lawrie i Ledward, 2006). Katepsin D je aktivan tokom šest meseci procesa prerade i

smatra se da on najznačajnije utiče na proces proteolize u fermentisanim kobasicama zahvaljujući svojoj stabilnosti i optimalnoj aktivnosti pri niskoj vrednosti pH (Molly i sar., 1997; Toldrá, 2002).

Uloga katepsina u postmortalnoj proteolizi u mesu je veoma diskutabilna i često osporavana. Prvi od dva osnovna argumenta koja idu u prilog prethodnom navodu tiče se činjenice da su katepsini lokalizovani u lizozomima te da zbog toga nemaju pristup miofibrilima, dok se drugi zasniva na slaboj razgradnji miozina i aktina u mišiću *post mortem*, iako ovi proteini predstavljaju veoma dobar supstrat za delovanje katepsina. Nasuprot tome, poznato je da lizozomi imaju veoma osetljive lipoproteinske membrane koje pod uticajem niske vrednosti pH pucaju, te katepsini bivaju oslobođeni usled čega ne bi trebalo zanemariti njihov doprinos postmortalnoj proteolizi (Lawrie i Ledward, 2006, Geesink i Veiseth, 2009, Bowker i sar., 2010).

### **Multikatalitički kompleks proteinaza - proteazom**

Proteazom ili multikatalitički kompleks proteinaza (MCP) 20S je cilindričnog oblika, velike molekulske mase (700 kDa) i sastavljen je od velikog broja podjedinica. Iako njegova uloga u postmortalnoj proteolizi još uvek nije u potpunosti razjašnjena, poznato je da ovaj enzimski kompleks iskazuje aktivnost sličnu tripsinu i himotripsinu, te da hidrolizuje peptidil-glutamil peptide. Lociran je u sarkoplazmi skeletnih mišića, a optimalnu aktivnost postiže pri pH 7,0 – 8,0, dok sa padom vrednosti pH veoma brzo opada aktivnost kompleksa što je posebno izraženo pri pH<5.5. Vrlo je verovatno da proteazom deluje u sinergiji sa kalpainima koji svojom aktivnošću oslobađaju velike proteine iz miofibrilarne strukture i tako ih čine dostupnim (Allen i Goll, 2003; Bowker i sar., 2010). U stanju je da razgrađuje miofibrilarne proteine poput troponina C i lakog lanca miozina, utiče na razgradnju M i Z linije, i verovatno učestvuje u postmortalnim promenama sporo-oksidujućih mišića, odnosno u mesu visoke vrednosti pH. Utvrđeno je da proteazom u mišiću *post mortem* ostaje stabilan tokom sedam dana zrenja što ukazuje da njegova uloga u proteolizi ne može biti zanemarena (Sentandreu i sar., 2002; Lawrie i Ledward, 2006; Bowker i sar., 2010).



#### 2.3.4.2. EGZOPEPTIDAZE

Egzopeptidaze su proteolitički enzimi koji razgrađuju polipeptide na male peptide (tripeptidilpeptidaze – TPP, dipeptidilpeptidaze - DPP) i aminokiseline (dipeptidaze, aminopeptidaze i karboksipeptidaze). Ovi enzimi uglavnom deluju u kasnijim fazama proteolitičkog procesa (Krvavica i sar., 2007).

TPP deluju tako što oslobađaju različite tripeptide sa N-kraja polipeptida, dok DPP oslobađaju sekvence dipeptida. Na osnovu veličine molekula, specifične aktivnosti i mesta u ćeliji na kojem se nalaze razlikuju se dve tripeptidilpeptidaze i četiri dipeptidilpeptidaze. Molekulska masa ovih enzima varira između 100 i 200 kDa, dok veličina molekula TPP II iznosi čak 1000 kDa. TPP I je locirana u lizozomima i optimalnu aktivnost postiže pri pH 4.0, a iz polipeptidnog lanca oslobađa tripeptide Gly-Pro-X, gde je X aminokiselina, najčešće hidrofobne prirode. TPP II se nalazi u sarkoplazmi, a optimalna vrednost pH delovanja je u intervalu od 6.5 do 7.5. TPP II poseduje široku specifičnost delovanja, osim u slučaju kada je prolin (Pro) prisutan na jednoj od strana peptidne veze. Dipeptidilpeptidaze I i II se nalaze u lizozomima i optimalno delovanje postižu pri pH 5.5. Aktivnošću DPP I najčešće nastaju dipeptidi Ala-Arg i Gly-Arg, dok DPP II ima afinitet prema terminalnim Gly-Pro sekvencama. DPP III se nalazi u citosolu, DPP IV je vezan za ćelijsku membranu, a oba enzima su najaktivnija u baznoj sredini pri pH 7.5 - 8.0. DPP IV, poput DPP II, poseduje specijalnu sklonost ka Gly-Pro dipeptidima, dok DPP III preferira Ala-Arg i Arg-Arg sekvence. Bez obzira na afinitet, ovi enzimi deluju i na druge sekvence ali u manjoj meri, te posredstvom njihove aktivnosti u postmortalnom mišiću dolazi do akumulacije širokog spektra dipeptida (Toldrá, 2002). Tokom proizvodnje pršuta ova grupa enzima je aktivna više od 15 meseci, osim u slučaju DPP II čija aktivnost prestaje nakon 8. meseca prerade (Sentandreu i Toldrá, 2001).

Dipeptidi nastali delovanjem dipeptidilpeptidaza (DPP) dalje se razgrađuju usled aktivnosti dipeptidaza, te nastaju dve slobodne aminokiseline. Na osnovu afiniteta prema određenim aminokiselinama dipeptidaze su dobile svoja imena. Tako glicilglicin dipeptidaza veoma specifično hidrolizuje dipeptide koji sadrže aminokiselinu glicin, cisteinglicin dipeptidaza specifično hidrolizuje dipeptide Cys-Gly, dok arginin dipeptidaza preferira bazne aminokiseline (Toldrá, 2002).

Aminopeptidaze čine posebnu grupu egzopeptidaza koje imaju veoma značajnu ulogu tokom fenomena proteolize u mišiću *post mortem* jer katalizuju cepanje peptidne veze na N-kraju polipeptida, te stvaranje slobodnih aminokiselina. Ovo je od posebnog značaja kod

proizvodnje sušenih, fermentisanih proizvoda od mesa obzirom da akumulacija slobodnih aminokiselina značajno utiče na ukus i ukupnu aromu proizvoda (Toldrá, 2006a). Aminopeptidaze su metalo-proteini, velike molekulske mase i kompleksne strukture. Optimalnu aktivnost postižu pri neutralnoj ili baznoj vrednosti pH. Na osnovu specifične aktivnosti i afiniteta prema određenim N-terminalnim aminokiselinama do sada je izdiferencirano pet različitih aminopeptidaza: leucil, arginil, alanil, piroglutamil i metionil, koje imaju sposobnost da hidrolizuju i druge aminokiseline ali u nešto manjem stepenu (Toldrá, 2002). Alanil je najznačajnija aminopeptidaza obzirom da je njena aktivnost u postmortalnom mišiću najveća. Primarno ona hidrolizuje alanin ali deluje i na aromatične, alifatične i bazne aminoacil veze. Metionil aminopeptidazu aktiviraju  $\text{Ca}^{2+}$  joni i prvenstveno deluje na metionin, alanin, lizin i leucin aminokiseline. Arginil aminopeptidaza, poznata i kao aminopeptidaza B, hidrolizuje bazne aminokiseline poput arginina i lizina (Toldrá, 2006a).

Karboksiptidaze su enzimi locirani u lizozomima koji optimalnu aktivnost postižu u kiseloj sredini. Njihovim delovanjem dolazi do odvajanja aminokiseline sa C-kraja polipeptidnog lanca. Karboksiptidaza A ima afinitet prema hidrofobnim aminokiselinama, dok karboksiptidaza B iskazuje svoju aktivnost prema velikom broju aminokiselina (Toldrá, 2002).

### 2.3.5. PROTEOLITIČKI ENZIMI MIKROORGANIZAMA

Tokom proizvodnje fermentisanih kobasica dolazi do značajne hidrolize miofibrilarnih i sarkoplazmatskih proteina, izazvane kombinovanim delovanjem mišićnih i proteolitičkih enzima mikrobnog porekla. Kako je već napomenuto, inicijalnu razgradnju proteina dominantno uzrokuju mišićne proteinaze (Molly i sar., 1997; Hughes i sar., 2002; Spaziani i sar., 2009) dok uloga mikrobnih enzima takođe ne može biti zanemarena (Sanz i Toldrá, 2002). Utvrđeno je da enzimi bakterija mlečne kiseline (BMK), a posebno roda *Lactobacillus* utiču na formiranje i akumulaciju malih peptida i slobodnih aminokiselina, što doprinosi razvoju odgovarajućeg mirisa i ukusa, odnosno poželjnih senzornih svojstava kobasice (Fadda i sar., 2010).

Upotreba starter kultura je karakteristična za proizvodnju fermentisanih kobasica u industrijskim uslovima kako bi se osigurao tok poželjnih biohemijskih promena, koje utiču na razvoj odgovarajućih senzornih i fizičkohemijskih karakteristika, te povećanje bezbednosti kobasice. Nasuprot tome, izrada tradicionalnih suvih kobasica se isključivo zasniva na aktivnosti prirodne mikroflore prisutne u sirovinama i prostoru proizvodnje, a proces

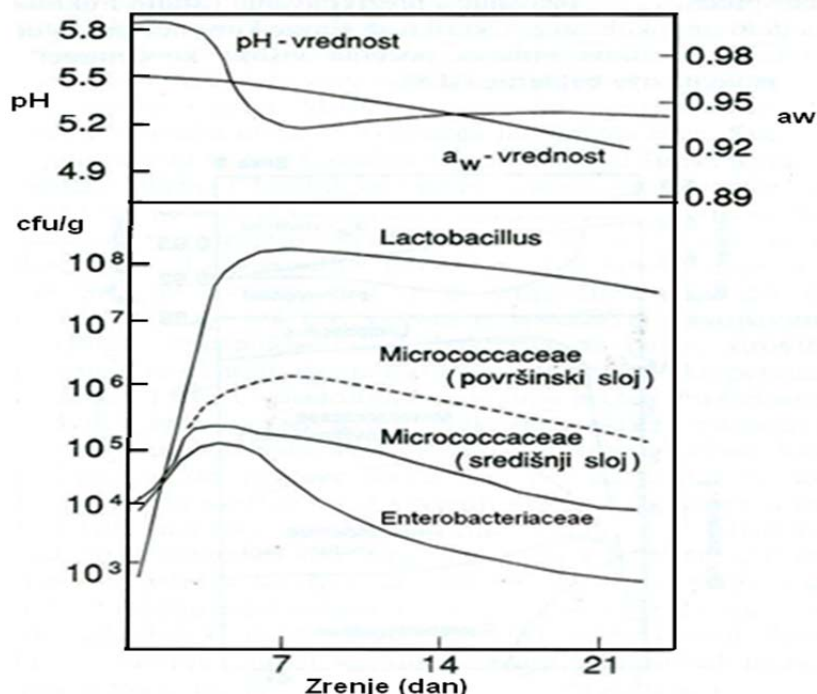
fermentacije i zrenja se odvija pri niskim temperaturama, tokom dužeg vremenskog perioda (Toldrá, 2002, Casaburi, 2007).

Poreklo i sastav mikroorganizama koji se prirodno mogu naći u sirovom nadevu kobasice veoma varira u zavisnosti od velikog broja faktora. Najznačajniji među njima su karakteristike geografskog područja proizvodnje (položaj, klima, zemljište, voda i dr.) osnovnih sirovina, a zatim i nivo higijene tokom manipulacije mesom, higijena prostora u kojem se izrađuje nadev i mikrobiološki status začina i aditiva koji ulaze u sastav sirovog nadeva. Takođe, prisustvo kuhinjske soli i nitrita, zatim potrošnja kiseonika i pad vrednosti pH i  $a_w$ , te akumulacija određenih metabolita, poput bakteriocina, može prevenirati rast patogenih i truležnih mikroorganizama, a u isto vreme favorizovati razvoj poželjnih mikroorganizama, pre svega BMK i pojedinih vrsta rodova *Staphylococcus* i *Kocuria*. BMK imaju suštinski važnu ulogu tokom proizvodnje fermentisanih kobasica jer posredstvom svog metabolizma iz prisutnih ugljenih hidrata stvaraju dominantno mlečnu kiselinu, usled čega dolazi do pada vrednosti pH, odnosno acidifikacije proizvoda, čime se onemogućava razvoj nepoželjnih mikroorganizama i pozitivno utiče na boju i teksturu proizvoda (Leistner, 1994; Talon i sar., 2002; Toldrá, 2002).

Na slici 2.31. prikazana je tipična promena broja različitih grupa bakterija tokom proizvodnje fermentisanih kobasica. Tokom faze fermentacije broj BMK od inicijalne vrednosti  $10^3$ - $10^5$  cfu/g može da naraste do  $10^7$ - $10^9$  cfu/g, obzirom da se bakterije rodova *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* i *Streptococcus* najbolje razvijaju u toj sredini. *L. plantarum* je specifičan za kobasice kod kojih se faza fermentacije odvija na višoj temperaturi, dok su *L. sakei* i *L. curvatus* dominantna mikroflora kobasica čija se proizvodnja odvija pri nižim temperaturama, što je karakteristika evropskih tradicionalnih fermentisanih kobasica (Bem i Adamič, 1991; Toldrá i sar., 2001).

*Micrococcaceae* su takođe veoma zastupljene, ali njihov rast i razvoj u velikoj meri zavisi od pada vrednosti pH. Ukoliko stvaranje kiseline nije suviše intenzivno dešava se značajan rast ovih bakterija od inicijalnog broja koji iznosi  $10^3$ - $10^5$  log cfu/g do  $10^7$  log cfu/g, a posebno stafilokoka i kocuria. U prirodno fermentisanim kobasicama su najčešće zastupljeni sojevi vrsta *S. xylosus*, *S. carnosus* i *K. varians*. Kvasci i plesni takođe mogu biti zastupljeni u malom broju u sirovom nadevu ali njihov broj tokom fermentacije raste do  $10^6$ - $10^7$  cfu/g ili  $\text{cm}^2$ . Kvasci, a posebno *Debaryomyces hansenii*, na početku procesa proizvodnje se mogu naći u centru kobasice ali teže da ostvare svoj rast u perifernim slojevima ili na samoj površini

kobasice. Nasuprot kvascima, plesni poput *Penicillium* spp. generalno rastu samo na površini kobasice (Toldrá, 2002)



Slika 2.31. Promena broja dominantnih mikroorganizama u zavisnosti od evolucije vrednosti pH i  $a_w$  tokom fermentacije i zrenja kobasica (Bem i Adamič, 1991)

Kao što je već napomenuto, više faktora u kobasici deluje tako što svaki pojedinačno doprinosi sistemu koji onemogućava rast i razvoj nepoželjnih mikroorganizama, čineći takozvani „efekat prepreka“ (Leistner, 1994). Dakle, inhibicija patogena i bakterija koje izazivaju kvar je rezultat kombinovane aktivnosti dodate kuhinjske soli, nitrita i šećera, zatim smanjenja redoks potencijala, vrednosti pH i aktivnosti vode ( $a_w$ ), kao i temperature fermentacije, te inicijalnog broja dodatih bakterija mlečne kiseline. Razvoj nepoželjnih mikroorganizama, kao što su *Enterobacteriaceae*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* i *C. perfringens*, može biti posledica upotrebe sirovina niskog higijenskog kvaliteta i/ili nehigijenskog postupanja tokom proizvodnje kobasica. Ovi mikroorganizmi, pored činjenice da su veliki rizik po zdravlje ljudi, predstavljaju i glavni uzrok grešaka koje nastaju tokom proizvodnje kobasica (Toldrá, 2002).

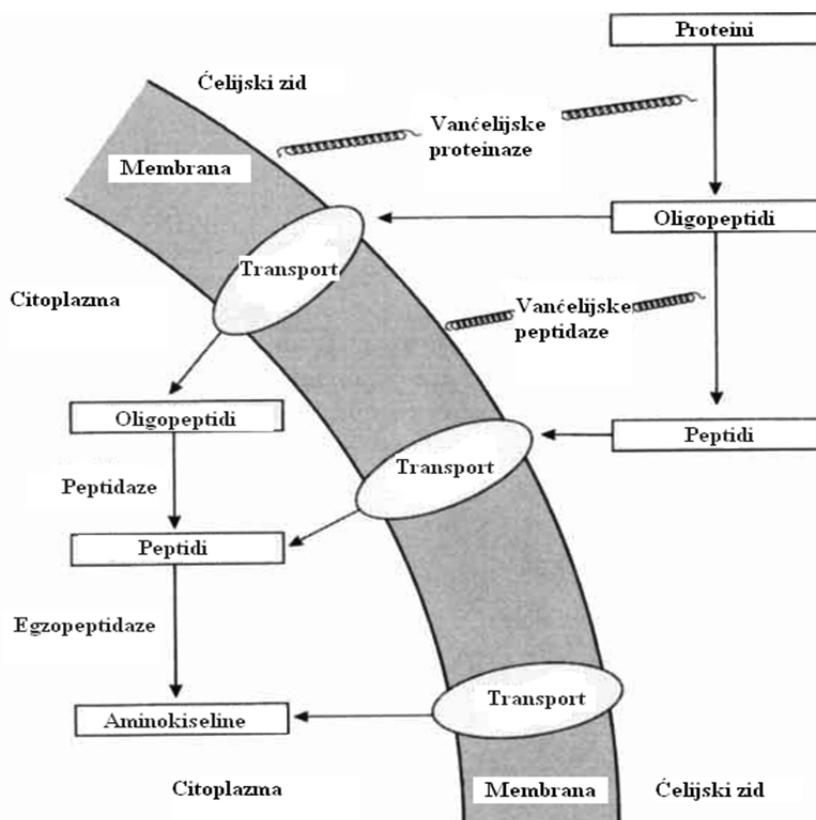
Enzimski sistem mikroorganizama obuhvata veliki broj enzima koji deluju u okviru različitih metaboličkih reakcija i koji se na osnovu mesta delovanja mogu podeliti u četiri grupe: *vanćelijski enzimi* (produkuju se unutar žive ćelije i luče u spoljašnju sredinu), *enzimi vezani za ćelijski zid*, *enzimi vezani za ćelijsku membranu* i *unutarćelijski enzimi* (produkuju se unutar ćelije, a u spoljašnju sredinu dospevaju tek nakon razgradnje ćelije). Stepenn aktivnost ovih enzima zavisi pre svega od njihove količine, odnosno broja mikroorganizama i razlaganja ćelija (oslobađanja enzima), kao i od uslova koji vladaju u kobasici, a koji se tokom zrenja mogu drastično menjati. Ovo se pre svega odnosi na vrednost pH, sadržaj NaCl, temperaturu i sadržaj vlage tokom fermentacije i zrenja (Toldrá, 2002).

Kao što je već napomenuto, u sirovom nadevu kobasice najbolje se razvijaju bakterije iz roda *Lactobacillus*, te imaju i najveći značaj tokom procesa fermentacije i zrenja. Poslednjih godina ispitana su svojstva, odnosno optimalna temperatura, vrednost pH i specifičan supstrat delovanja više proteolitičkih enzima koje produkuju ove bakterije. Sojevi vrsta *L. sakei*, *L. plantarum*, *L. casei* i *L. curvatus* pokazuju široku specifičnost prema aminokiselinama koje se nalaze na N-kraju peptidnog lanca, a posebno prema alaninu, valinu i leucinu. Takođe, proteolitička aktivnost ovih bakterija je izraženija prema sarkoplazmatskim proteinima mišića u odnosu na miofibrilarne (Toldrá, 2002, Fadda i sar., 2010).

U industrijskoj proizvodnji fermentisanih kobasica poslednjih godina je ustaljena praksa upotrebe starter kultura koje se sastoje od velikog broja raznovrsnih mikroorganizama. U zavisnosti od enzimskog profila ovi mikroorganizmi produkuju široku paletu proteolitičkih enzima koji se generalno, prema mestu delovanja na polipeptidnom lancu, mogu klasifikovati u tri osnovne grupe (Toldrá, 2002):

- Proteinaze (endopeptidaze) – uglavnom su to enzimi vezani za ćelijski zid, odgovorni za razgradnju proteina na polipeptide,
- Peptidaze – uglavnom su to unutarćelijski enzimi odgovorni za razgradnju polipeptida na manje peptide,
- Egzopeptidaze – takođe unutarćelijski enzimi odgovorni za stvaranje slobodnih aminokiselina

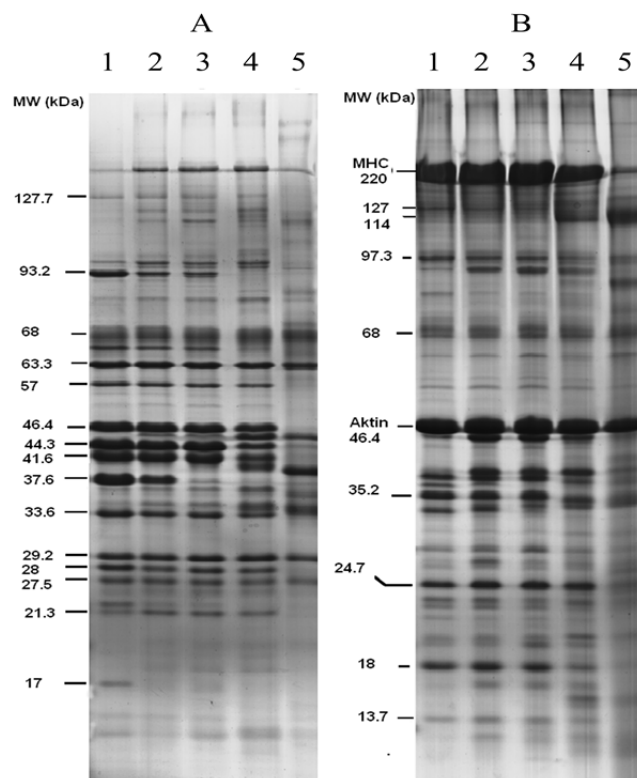
Na slici 2.32. prikazan je proces hidrolize mišićnih proteina pod dejstvom navedenih grupa mikrobioloških enzima. Oligopeptidi i mali peptidi nastali dejstvom enzima mesa i mikrobnih vanćelijskih proteinaza i peptidaza posredstvom sistema transporta kroz membranu dospevaju u unutrašnjost ćelije gde bivaju dalje hidrolizovani do aminokiselina aktivnošću unutarćelijskih tripeptidaza, dipeptidaza i aminopeptidaza (Sanz i Toldrá, 2002; Toldrá, 2002).



Slika 2.32. Šematski prikaz proteolize pod dejstvom enzima mikroorganizama (Toldrá, 2002)

### 2.3.6. PROTEOLIZA U SUVOMESNATIM PROIZVODIMA

Proces proteolize, odnosno hidrolize sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina mišića, tokom proizvodnje različitih suvomesnatih proizvoda od mesa, a pre svega suve šunke je detaljno izučen u prethodne dve decenije (Toldrá i sar., 1993; Monin i sar., 1997; Toldrá, 1998; García-Garrido i sar., 2000; Sentandreu i Toldrá, 2001; Soriano Pérez i García, 2003; Mora i sar., 2009). Upotreba sofisticirane analitičke tehnike, SDS-PAG elektroforeze (sodium dodecil sulfata polyacrylamide gel electrophoresis), je omogućila uvid u dinamiku i intenzitet proteolitičkih promena koje se dešavaju tokom proizvodnje šunke (Slika 2.33).



Slika 2.33. SDS-PAGE profil sarkoplazmatskih (A) i miofibrilarnih (B) proteina ekstrahovanih tokom različitih faza proizvodnje španske *Teruel* šunke (1 – sirova šunka, 2 – faza soljenja, 3 – nakon faze soljenja, 4 – nakon 4 meseca zrenja, 5 – suva šunka) (Larrea i sar., 2006)

Utvrđeno je da su miofibrilarni proteini podložniji hidrolitičkim promenama u odnosu na sarkoplazmatske. Tako su Toldrá i sar. (1993) tokom proizvodnje španske suve šunke utvrdili progresivnu razgradnju teškog lanca miozina, lakih lanaca miozina 1 i 2, te troponina I i C. U isto vreme registrovan je porast koncentracije polipeptida molekulske mase oko 150, 95 i 16 kDa, kao i više fragmenta u intervalima 50–100 kDa i 20–45 kDa. Nastanak malih peptida kao rezultat razgradnje najznačajnijih miofibrilarnih proteina registrovali su i drugi autori (Sentandreu i sar., 2007; Mora i sar., 2009). Neki od ovih peptida utiču na razvoj karakterističnog ukusa proizvoda. Tri- i dipeptidi dominantno nastaju pod uticajem dipeptidaze I i tripeptidaze I koje se odlikuju visokom aktivnošću i stabilnošću pri vrednosti pH kakva je u šunki (Sentandreu i Toldrá, 2001).

Analizom hemijskih i strukturnih promena tokom proizvodnje francuske *Bayonne* i španske *Teruel* šunke utvrđeno je značajno slabljenje Z-linije i oštećenje vlakana već nakon faze soljenja (Monin i sar., 1997; Larrea i sar., 2007). Međutim, suviše intenzivan proces proteolize može dovesti do naglašenih strukturnih promena koje rezultuju izraženim omekšavanjem tkiva i nepovoljnim senzornim doživljajem teksture proizvoda. To je najčešće

uzrokovano velikom aktivnošću katepsina B, izazvanom niskim sadržajem soli, koja deluje inhibitorno na ovu lizozomsku proteinazu (García-Garrido i sar., 2000). Nasuprot katepsinima, koji mogu delovati tokom čitavog perioda zrenja (B, L i H), aktivnost kalpaina je zahvaljujući niskoj stabilnosti ograničena na inicijalne dane proizvodnje (Toldrá i sar., 1992, 1993).

U poslednjoj fazi proteolitičkog procesa dejstvom endogenih mišićnih aminopeptidaza nastaju slobodne aminokiseline među kojima prevladavaju alanin, leucin, arginin, valin, lizin, glutaminska i asparaginska kiselina. Njihova koncentracija u velikoj meri zavisi od tipa šunke i dužine procesa zrenja (Toldrá i sar., 2000). Aminokiseline poput glutaminske kiseline, glicina, alanina, valina, prolina, histidina i leucina su nađene u aromatičnim frakcijama šunke. Velike koncentracije lizina i tirozina su često u korelaciji sa zrelim ukusom proizvoda, dok je povišen sadržaj asparaginske kiseline, metionina, fenilalanina, triptofana, lizina, leucina i izoleucina povezan sa dužinom sušenja i potpuno zrelim ukusom šunke. Gorak ukus je često rezultat povećane koncentracije triptofana, tirozina i fenilalanina. U mnogim slučajevima kristali tirozina, koji su potpuno nerastvorni, se mogu uočiti na reznoj površini šunke u vidu belih tačkica (slika 2.34), ukazujući na veoma dug period zrenja (Toldrá i Aristoy, 2010).

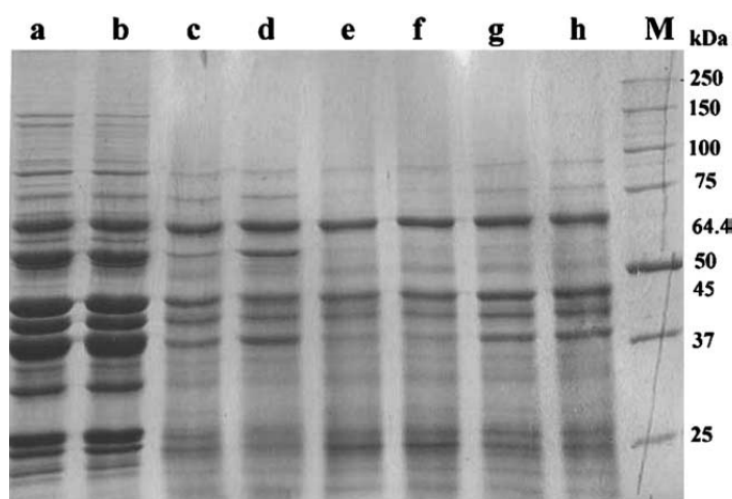


Slika 2.34. Kristali tirozina (bele tačkice) su pokazatelj dugog perioda zrenja šunke  
(Toldrá i Aristoy, 2010)



### 2.3.7. PROTEOLIZA U FERMENTISANIM KOBASICAMA

U modernoj proizvodnji sušenih kobasica procesi fermentacije pored konzervišućeg efekta moraju da obezbede i stvaranje karakterističnog ukusa, mirisa i teksture, odnosno proizvoda standardnog kvaliteta. Nova saznanja u pogledu uloge BMK i njihovih proteolitičkih enzima mogu biti od velikog značaja za ubrzanje procesa zrenja, modifikovanje ukupne arome i korekcije određenih grešaka ukusa (kiselost, gorčina itd.). U tom smislu, dobro izbalansirana razgradnja proteina mesa (proteoliza) na peptide i aminokiseline je neophodna jer ova jedinjenja direktno učestvuju u razvoju ukusa suvih fermentisanih kobasica tokom proizvodnje. Doprinos enzima različitog porekla, kako endogenih enzima mišićnog tkiva tako i onih mikrobnog porekla, procesu proteolize u velikoj meri zavisi od vrste i kvaliteta sirovine, tipa proizvoda i naravno uslova proizvodnje (Toldrá, 1992, 2002; Molly i sar. 1997).



Slika 2.35. SDS-PAGE profil sarkoplazmatskih proteina ekstrahovanih iz italijanskih Vallo Diano fermentisanih kobasica. Linije a i b neinokulisane-kontrolne kobasice na početku i nakon 192h inkubacije, Linije c-h kobasice inokulisane različitim sojevima bakterija *S. carnosus* i *S. simulans* nakon 192h inkubacije (Casaburi i sar. 2005)

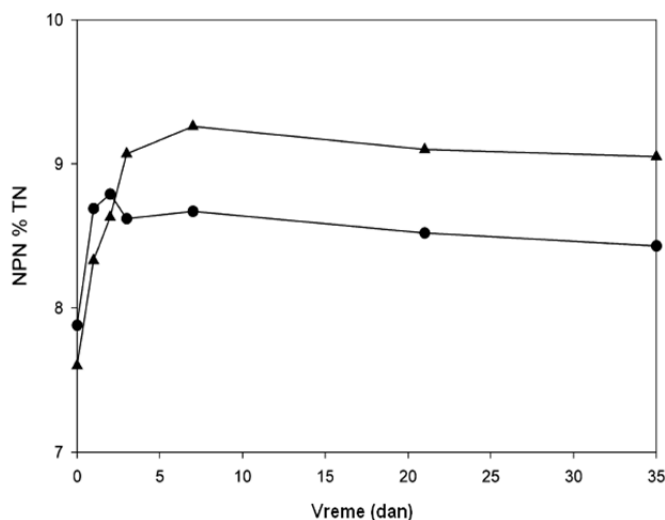
Meso je kompleksan sistem koji se sastoji od velikog broja proteina, te je u njemu istraživanje proteolitičkog procesa veoma zahtevno. Kobasice proizvedene sa starter kulturom odlikuju se odličnim izgledom zahvaljujući ujednačenom sušenju, bez formiranja perifernog prstena, i razvoju dobre teksture i boje. Međutim, i pored ove činjenice potrošači više cene kobasice proizvedene bez startera i sušene na nižim temperaturama, a zahvaljujući njihovom

jedinstvenom ukusu. Tokom proizvodnje fermentisanih kobasica dolazi do značajne degradacije miofibrilarnih proteina izazvane prvenstveno aktivnošću endogenih enzima, dok bakterijske starter kulture iskazuju veću proteolitičku aktivnost prema sarkoplazmatskim proteinima (slika 2.33) (Toldrá, 2002; Talon i sar., 2004; Casaburi i sar. 2005).

Stepen učešća endogenih mišićnih enzima u odnosu na enzime mikrobnog porekla u hidrolizi proteina često je ispitivan tokom predhodne dve decenije (Molly i sar., 1997; Demeyer, 2004; Spaziani i sar., 2009). Dobijeni rezultati su potvrdili pretpostavku da je uloga enzima mikrobnog porekla, zbog većeg prisustva mikroorganizama, značajnija tokom razgradnje proteina u fermentisanim kobasicama (Toldrá, 2004). Smatra se da je i do 40% razgradnje polipeptida na manje peptide i aminokiseline u ovim proizvodima direktno izazvano aktivnošću enzima mikroorganizama. Tako, je u kobasicama koje su sadržale antibiotike registrovana manja koncentracija slobodnih aminokiselina u odnosu na one inokulisane bakterijama iz rodova *Staphylococcus* i *Kocuria*. Takođe, uočeno je da enzimi BMK, kao što su *L. sakei*, *L. plantarum*, *L. casei* i *L. curvatus*, poseduju određena proteolitička svojstva, pre svega izražena prema sarkoplazmatskim proteinima (Sanz i sar., 1999; Fadda i sar., 2010). Međutim, za proces proteolize u fermentisanim kobasicama je značajniji indirektni doprinos BMK usled redukcije vrednosti pH. Krajnja vrednost pH, dostignuta tokom fermentacije, značajno utiče na aktivnost mišićnih proteinaza i peptidaza. Kada vrednost pH padne ispod 5,0, proteolitička aktivnost katepsina D je veoma visoka, te utiče na intenzivnu razgradnju nekoliko miofibrilarnih proteina. Ovo je prvenstveno slučaj sa miozinom koji se najčešće razgrađuje na polipeptide veličine 120-150 kDa, ali nastaju i manji proteinski fragmenti u rasponu molekulskih masa 50 - 100 kDa i 14 - 45 kDa. Kada je pad vrednosti pH neznatan (pH>5.0), degradacija najznačajnijih proteina mesa nije tako intenzivna. Ovo je najčešće slučaj kod prirodnog procesa fermentacije i zrenja, bez dodatka starter kultura, te je kod takvih kobasica registrovana visoka stabilnost aktina (Toldrá, 1998, 2002; Talon i sar., 2004; Casaburi i sar., 2007; Spaziani i sar., 2009).

Tokom fermentacije, dimljenja, sušenja i zrenja kobasica usled razgradnje proteina nastaju manji proteinski fragmenti i peptidi što se odražava porastom sadržaja neproteinskog azota (engl. *Non-protein nitrogen*, NPN) (De Masi i sar., 1990; García De Fernando i Fox, 1991; Beriain i sar., 2000; Hughes i sar., 2002; Dalmış i Soyer, 2008). Ovo povećanje je posebno izraženo u prisustvu starter kultura ukazujući na značaj mikrobnih peptidaza (Slika 2.36). Nastala niskomolekularna jedinjenja imaju poseban značaj za konačnu aromu kobasice,

a produkcija velike količine hidrofobnih peptida može izazvati nastanak gorkog i ostalih stranih ukusa.



Slika 2.36. Promena sadržaja NPN (% u ukupnom azotu – TN) tokom zrenja kobasica bez (●) i sa dodatkom bakterijske kulture (▲) *S. carnosus* (Hughes i sar., 2002).

Poslednja faza u lancu proteolize je nastanak slobodnih aminokiselina. Tokom zrenja fermentisanih kobasica, usled aktivnosti mišićnih i mikrobnih egzopeptidaza, dolazi do razgradnje peptida i proteinskih fragmenata male molekulske mase, te porasta koncentracije slobodnih aminokiselina. Količina slobodnih aminokiselina u proizvodu uslovljena je visinom vrednosti pH, koncentracijom soli i aditiva kao i uslovima proizvodnje (vreme, temperatura, intenzitet sušenja) koji značajno utiču na aktivnost različitih aminopeptidaza. Krajnja vrednost pH, postignuta tokom fermentacije ( $\text{pH} < 5.0$ ) značajno utiče na mišićne aminopeptidaze redukujući njihovu aktivnost. Slično dejstvo pH ima i na aminopeptidaze mikrobnog porekla ali neke od njih ipak ostaju aktivne i pri tako niskim vrednostima. Kuhinjska so, takođe pakazuje inhibitorni efekat na aktivnost ovih enzima. Nastanak slobodnih aminokiselina takođe zavisi i od ubotrebe starter kultura, odnosno od karakteristika upotrebljenih mikroorganizama. Kako je već napomenuto, bakterije iz roda *Lactobacillus* kao što su *L. sakei*, *L. plantarum*, *L. casei* i *L. curvatus* iskazuju specifičnu aminopeptidaznu aktivnost prema aminokiselinama na N-kraju peptidnog lanca, a posebno prema alaninu, valinu i leucinu. Najveći broj novoformiranih slobodnih kiselina nastaje razgradnjom sarkoplazmatskih proteina, obzirom na proteolitičku aktivnost mikroorganizama (Sanz i sar. 1999; Toldrá, 2002; Fadda i sar., 2010).

## 2.4. FERMENTISANE KOBASICE

U prethodnim poglavljima je detaljno prikazan istorijat, poreklo, razvoj, kao i reputacija tradicionalnih sušenih fermentisanih kobasica. Takođe, objašnjene su osnovne fizičko-hemijske i biohemijske promene koje dovode do transformacije sirovog nadeva u gotov proizvod poželjnih senzornih osobina. Međutim, kako bi prikaz ove značajne grupe proizvoda od mesa bio upotpunjen u ovom poglavlju će biti više reči o samom procesu proizvodnje, odnosno o osnovnim sirovinama i dodacima, te o primenjenim tehnološkim operacijama.

Prema domaćem Pravilniku (Sl. glasnik RS, br. 31/2012), fermentisane kobasice su proizvodi dobijeni od mesa domaćih papkara i kopitara prve i druge kategorije, mesa živine prve kategorije i mesa divljači, masnog tkiva i dodataka, koji se posle punjenja u omotače konzervišu postupcima fermentacije i sušenja, odnosno zrenjem, sa ili bez dimljenja. Dodaci za fermentisane kobasice mogu da budu kuhinjska so, začini, ekstrakti začina, aditivi, arome dima, šećeri i starter kulture, a za fermentisane kobasice koje se u promet stavljaju kao funkcionalna hrana i dijetna vlakna, inulin, omega-3 masne kiseline i ulja bogata ovim kiselinama, fitosteroli, prirodni antioksidansi, vitamini i mineralne materije.

Fermentisane kobasice se proizvode i stavljaju u promet kao: fermentisane suve kobasice, fermentisane polusuve kobasice i fermentisane kobasice za mazanje. Fermentisane suve kobasice su zreli proizvodi koji sadrže manje od 35% vode. Suše se na nižim temperaturama, zrenje im duže traje, pri čemu stiču karakterističnu, prijatnu i pikantnu aromu, čvršću konzistenciju i dobru održivost (Vuković, 2006; Pravilnik, Sl. glasnik RS, br. 31/2012).

Fermentisane suve kobasice u proizvodnji i prometu moraju da ispunjavaju sledeće zahteve (Pravilnik, Sl. glasnik RS, br. 31/2012):

- 1) da površina nije deformisana, da omotač nije oštećen i da dobro prileže uz nadev;
- 2) da nadev na preseku ima izgled mozaika sastavljenog od približno ujednačenih komadića mišićnog tkiva crvene boje i masnog tkiva beličaste boje i da su sastojci u nadevu ravnomerno raspoređeni;
- 3) da na preseku nema šupljina i pukotina;
- 4) da imaju stabilnu boju i prijatan i karakterističan miris i ukus;
- 5) da imaju čvrstu konzistenciju;
- 6) da se mogu narezivati, a da se sastojci nadeva prilikom rezanja ne razdvajaju;

7) da je sadržaj proteina mesa najmanje 20%, a sadržaj kolagena u proteinima mesa najviše 20%, ako to nije drukčije propisano ovim pravilnikom.

## 2.4.1. PROCES PROIZVODNJE SUVIH FERMENTISANIH KOBASICA

### 2.4.1.1. OSNOVNI SASTOJCI I DODACI

#### Meso i masno tkivo

Meso (skeletna muskulatura sa pripadajućim masnim i vezivnim tkivom, nervima, krvnim i limfnim sudovima) i masno tkivo su dva osnovna sastojka većine fermentisanih kobasica, te od njihovih karakteristika u velikoj meri zavisi senzorni i nutritivni kvalitet, kao i bezbednost finalnih proizvoda. U proizvodnji fermentisanih kobasica koristi se meso zdravih, odraslih i dobro uhranjenih životinja, čiji premortalni tretman (držanje, transport, odmor pre klanja) treba da bude takav da obezbedi pravilan tok postmortalnih promena. Upotreba mesa starijih grla, koje sadrži više suve materije, pa i mioglobina, te ima intenzivniju crvenu boju i čvršću teksturu, preferira se pri izradi nekih tipova kobasica, a pretežno tradicionalnih (Rede i Petrović, 1997; Toldrá, 2002; Vuković, 2006; Ruiz, 2007).

Vrsta mesa koje se koristi zavisi od navika, običaja, tipa kobasice ili naprosto od zastupljenosti određenih vrsta i rasa životinja u geografskom području proizvodnje. Najčešće se koristi svinjsko meso, kojem se ponekad može dodati goveđe ili ovčije meso u manjem procentu, dok se u muslimanskim zemljama isključivo koristi meso goveda, ovaca ili koza iz religijskih razloga. Upotreba mesa konja, magaraca i mula je vrlo retka i ograničena na neke regionalne specifične kobasice, dok je meso divljači (divlja svinja, jelen) sve prisutnije u izradi ovih proizvoda (Ruiz, 2007; Vignolo i sar., 2010)

Bez obzira koja vrsta mesa se koristi, od izuzetnog značaja je da ono bude normalnog kvaliteta, odnosno da poseduje poželjna tehnološka svojstva u pogledu vrednosti pH, sposobnosti vezivanja vode, boje, teksture i hemijskog sastava. Kao što je u poglavlju 2.3.3. navedeno, odmah nakon smrti vrednost pH opada usled potrošnje raspoloživog glikogena i akumulacije mlečne kiseline i dostiže vrednost 5,3 - 5,5, tj. približno izoelektričnu tačku (IET) miozina. Usled postmortalnih procesa, pored promene vrednosti pH, menja se i struktura mesa, sposobnost vezivanja vode (SVV) i boja. Posledica različitog toka, odnosno brzine složenih biohemijskih procesa u mišiću *post mortem* je pojava mesa različitog tehnološkog kvaliteta. Danas su izdiferencirana najmanje tri osnovna tehnološka kvaliteta svinjskog mesa: *normalno* (crveno ružičasto, čvrsto i nevodnjikavo – CČN), BMV (bledo, meko i vodnjikavo)

i TČS (tamno, čvrsto i suvo). BMV meso se razvija kada se postmortalna glikoliza odvija ekstremno brzo na visokoj temperaturi mišića, a kao rezultat se javlja brzi pad vrednosti pH. Što je niža vrednost pH i što je viša temperatura to je veći stepen denaturacije proteina miofibrila, te oni gube sposobnost da vezuju vodu. U opisanim uslovima veliki deo tečnosti prelazi iz vlakana u ekstracelularne prostore. Meso je pri vizuelnom i palpatornom ispitivanju blede boje (denaturacija pigmenta i veće reflektovanje svetlosti zbog značajnog skraćanja sarkomere), meko i vodnjikavo (u tkivu je zbog denaturacije mnogo ekstracelularne tečnosti). TČS meso nastaje u onim mišićima koji u momentu klanja ne sadrže dovoljno glikogena za normalan obim postmortalne glikolize i pad vrednosti pH na normalnu krajnju vrednost od 5,4 - 5,8. U ovom slučaju vrednost pH se zaustavlja u području između 5,8 - 7,0, pa i višem. Zbog visoke vrednosti pH dobar deo vode u mišićnim vlaknima vezan je za miofibrilarne proteine. Prema tome, veći deo tečnosti ostaje u miofibrilima. Meso je tamnije jer je malo tečnosti u intracelularnim prostorima i manja količina svetlosti se odbija od suve površine, odnosno apsorbuje se više svetlosti dublje između miofilamenata, jer su oni razdvojeni i u njima nije razvijen *rigor mortis*. Upotreba BMV mesa u proizvodnji fermentisanih kobasica može izazvati ozbiljne probleme po pitanju boje i denaturacije proteina, dok TČS meso treba izbegavati zbog visokog stepena vezivanja vode (sporije sušenje) i visoke vrednosti pH koja pogoduje rastu i razvoju patogenih i mikroorganizama koji izazivaju kvar. Visok pH uz to otežava formiranje boje i povezivanje nadeva. Dakle, izuzev *normalnog*, ostali kvaliteti se smatraju nepoželjnim u proizvodnji fermentisanih kobasica (Rede i Petrović, 1997; Toldrá, 2002; Vuković, 2006; Tomović, 2009; Tasić, 2012).

Odnos mesa i masnog tkiva u svežem nadevu većine industrijski izrađenih fermentisanih kobasica iznosi 2:1. Kod tradicionalnih proizvoda ovaj odnos može varirati u zavisnosti od sadržaja masti koji se kreće u rasponu od 10 do 40%. Masno tkivo koje se koristi pri izradi fermentisanih kobasica mora biti sveže, bele boje i čvrste konzistencije. Mora imati visoku tačku topljenja i nizak sadržaj polinezasićenih masnih kiselina kako tokom procesa izrade nebi došlo do kapljanja i pojave užeglosti. U proizvodnji fermentisanih kobasica najčešće se upotrebljava čvrsto masno tkivo svinja sa vrata, grebena i leđa, koje noževi mašina za usitnjavanje seku lakše i čija mast se teže otapa prilikom usitnjavanja, sušenja i zrenja. Međutim, u muslimanskim zemljama, gde se svinjetina ne konzumira, za izradu kobasica u tipu sudžuka se koristi ovčije masno tkivo (Toldrá, 2002; Demeyer, 2004; Vuković, 2006; Lebert i sar., 2007a; 2007b; Ruiz, 2007; Vuković i sar., 2011a; 2011b).

## Dodaci

Natrijum hlorid (NaCl), odnosno kuhinjska so, se od davnina dodaje u meso pri izradi fermentisanih kobasica s obzirom na veliki broj pozitivnih efekata koji se na taj način postižu. Prvenstveno, dodatak NaCl-a utiče na pojavu karakterističnog slanog ukusa sušenih fermentisanih kobasica. Zatim, dodatak soli snižava  $a_w$  vrednost proizvoda što je posebno bitno u ranoj fazi proizvodnje kako bi se onemogućio ili bar usporio rast nepoželjnih mikroorganizama, u uslovima kada ostale prepreke nisu dovoljno visoke i značajne. Naime, poznato je da je kuhinjska so glavni činilac povećanja jonske jačine soljenog ili salamurenog mesa (Hamm, 1972; Rede i Petrović, 1997; Schneider i Rede, 1999; Puolanne i Halonen, 2010). Dodatkom kuhinjske soli jonska jačina se povećava od normalne vrednosti ( $\mu=0,25$ ) za oko 0,30 – 0,35 jedinica, te dolazi do rastvaranja fibrilarnih proteina (miozin). Dakle, iako kuhinjska so nema izrazito konzervišući efekat, njen dodatak direktno ili indirektno, preko rastvaranja proteina, utiče na smanjenje  $a_w$  vrednosti, što pozitivno deluje na održivost proizvoda. Dodatno, usled povećane rastvorljivosti proteina, njihovog boljeg geliranja i posledično slepljivanja komadića mesa, dolazi do formiranja odgovarajuće čvršće konzistencije kobasice. Međutim, so dodata u velikom procentu može izazvati ubranu oksidaciju masti, te inhibirati neke proteolitičke enzime značajne za proces zrenja i formiranje karakterističnog ukusa i arome kobasica. Uobičajena količina soli koja se dodaje prilikom izrade nadeva kobasica kreće se u intervalu od 2 do 4% (Leistner, 1994; Toldrá, 2002; Olesen i sar., 2004; Vuković, 2006; Ruiz, 2007; Roseiro i sar., 2008; Vignolo i sar., 2010).

Upotreba nitrita i/ili nitrata u obliku soli za salamurenje je postala uobičajena praksa proizvodnje fermentisanih kobasica u 20. veku. Međutim, kalijum nitrat (šalitra) je nenamerno, kao kontaminant kuhinjske soli, korišćen praktično od kada je čovek počeo da soli i suši meso. Sa druge strane, pozitivna svojstva nitrita u formiranju karakteristične crvene boje mesa su otkrivena krajem 19. i početkom 20. veka. Polenske je 1891. godine (prema Honikel-u, 2007) otkrio da se nitrat dodat u rastvor za salamurenje (šalitra), dejstvom nekih mikroorganizama redukuje u nitrit. Takođe, Lehmann (1899), Kisskalt (1899) i Haldane (1901) (prema Honikel-u, 2007) su potvrdili da je nitrit odgovoran za nastanak karakteristične crvene boje salamurenog mesa, te je on ubrzo nakon toga uveden u proces prerade mesa. Međutim, u neke proizvode su dodavane prevelike količine nitrita, što je s obzirom na njegovu toksičnost izazvalo više smrtnih slučajeva u Nemačkoj, a verovatno i u nekim drugim zemljama, tridesetih godina prošlog veka. Nemačka je taj problem rešila 1934. godine zakonom o nitritnim solima za salamurenje, kojim je upotreba nitrita dozvoljena jedino u

smeši sa kuhinjskom soli. Takva smeša je smela da sadrži maksimalno 0,6% nitrita, te je svaka prekomerna upotreba izazivala suviše slan ukus proizvoda od mesa (Toldrá, 2002; Honikel, 2007; Vignolo i sar., 2010).

Danas, se u većini zemalja, po preporuci Codex Alimentarius-a, nitriti ili nitrati dodaju do maksimalne količine od 150, odnosno 300 mg/kg, redom. Nitrati su veoma stabilni, a da bi njihov dodatak prilikom izrade fermentisanih kobasica imao funkciju potrebno je da se tokom proizvodnje oni redukuju do nitrita. Ovaj proces redukcije se dešava aktivnošću enzima nekih bakterija (*Micrococcaceae*), koje mogu biti prirodno prisutne u nadevu ili dodate kao starter kultura. Nastali nitritni jon je veoma reaktivan, te stupa u interakciju sa mioglobinom gradeći nitrozil mioglobin (Mb-NO), jedinjenje odgovorno za tipičnu crvenu boju salamurenog mesa. Takođe, nitrit deluje i kao konzervans koji sprečava rast nepoželjnih mikroorganizama (posebno *Clostridium botulinum*-a) i doprinosi razvoju karakterističnog ukusa (Toldrá, 2002; Olesen, 2004; Honikel, 2007; Vignolo i sar., 2010).

Upotreba askorbinske (vitamin C) i eritorbinske kiseline i njihovih soli je takođe postala uobičajena praksa savremene proizvodnje fermentisanih kobasica. Uloga ovih jedinjenja se prvenstveno odnosi na uspostavljanje redukujućih uslova pri kojima nitrat prelazi u nitrit, a zatim i na povećanje stabilnosti crvenog pigmenta nastalog interakcijom NO i mioglobina, kao i prevenciju oksidacije lipida (Toldrá, 2002; Roncalés, 2007; Vignolo i sar., 2010).

S obzirom da su rezerve glikogena u postmortalnom mišiću svedene na minimum ili u potpunosti potrošene tokom glikolize, u proizvodnji fermentisanih kobasica se često koriste ugljeni hidrati kako bi se bakterijama mlečne kiseline obezbedio odgovarajući supstrat potreban za rast i razvoj. Metaboličkom aktivnošću ovih bakterija šećeri se u procesu fermentacije prevode u mlečnu kiselinu, a posledično dolazi do pada vrednosti pH. Od vrste upotrebljenih ugljenih hidrata (dekstroza, glukoza, saharoza, laktoza, kukuruzni sirup, različiti skrobovi, sorbitol) zavisi brzina i količina nastale mlečne kiseline. Dodatak jednostavnih šećera koji se lako metabolišu (dekstroza i glukoza) omogućava brzu acidifikaciju proizvoda, što nije slučaj kada se koriste disaharidi (saharoza i laktoza). Količina ugljenih hidrata koja se koristi u izradi zavisi od vrste samog šećera ali i od tipa kobasice, odnosno dužine procesa proizvodnje. Generalno, ta količina se kreće u rasponu od 0,3 do 0,7% (Toldrá, 2002; Demeyer, 2004; Vuković, 2006; Ruiz, 2007; Vignolo i sar., 2010).

Začini najčešće predstavljaju specifikum različitih tipova fermentisanih kobasica, koji u zavisnosti od vrste i količine doprinose razvoju tipičnog ukusa, mirisa i ukupne arome.



Začini su proizvodi biljnog porekla, a mogu se koristiti u obliku semena (npr. kim, slačica), lista (npr. origano, ruzmarin), lukovice (npr. crni i beli luk) ili ploda (npr. paprika, biber). Takođe, začini se mogu koristiti u prirodnoj formi, zatim mleveni ili u obliku ekstrakta. Neki začini poseduju antimikrobna i antioksidativna svojstva. Začini se najčešće apliciraju u količini do 1%, dok u slučaju crvene mlevene začinske paprike, koja je uz biber najčešći začin domaćih fermentisanih kobasica, može biti u pitanju i znatno veća količina (2-3%). U mediteranske proizvode se najčešće dodaje beli biber, kardamom, madeira, crveno vino ili rum sa belim lukom, a u mađarske muskatni orah, kardamom, slatka paprika, tokajac i crveno vino sa belim lukom (Toldrá, 2002; Vuković, 2006; Petrović i sar., 2007; Ikonić i sar., 2010; Vignolo i sar., 2010; Tasić i sar., 2012).

Kao što je prethodno već napomenuto, najranija proizvodnja fermentisanih kobasica je bazirana na spontanoj fermentaciji izazvanoj mikroorganizmima koji su prirodno prisutni u sirovinama i prostoru u kojem se vrši proizvodnja. Izrada nekih tradicionalnih fermentisanih proizvoda se i danas odvija na taj način. Tokom ovog procesa simultano se usled aktivnosti prisutnih mikroorganizama dešavaju dve nezavisne reakcije ključne za uspešnu proizvodnju ovog tipa kobasica: pad vrednosti pH, usled nastanka i akumulacije mlečne kiseline, i redukcija nitrata u nitrite. Međutim, prisustvo/odsustvo različitih vrsta i sojeva tehnološki značajnih endogenih mikroorganizama u sirovinama, prostoru za izradu, na alatima koji se koriste prilikom izrade, pa i na rukama i odeći samih radnika je uslovljeno velikim brojem faktora. Usled te činjenice često se dešava da proizvode izrađene prirodnom fermentacijom karakterišu netipične fizičko-hemijske i senzorne osobine i/ili tehnološke greške, te da nisu bezbedni za upotrebu. Otuda je standardizacija industrijskog procesa proizvodnje, uz osiguranje kvaliteta i bezbednosti, a samim tim i ekonomske opravdanosti veoma skupe i rizične proizvodnje fermentisanih kobasica, uslovlila potrebu za povećanjem mogućnosti upravljanja procesom fermentacije, odnosno da se bar delimično prevaziđe zavisnost ove izuzetno bitne faze proizvodnog procesa od mikroorganizama okoline, ili tzv. „kućne flore“. To je u poslednje dve decenije postignuto upotrebom starter kultura. Brojnim istraživanjima mikroflore prirodno fermentisanih kobasica utvrđeno je da BMK i koagulaza-negativne koke (KNK) čine glavne grupe bakterija značajnih za procese fermentacije i zrenja kobasica. Najzastupljenije vrste bakterija mlečne kiseline, izolovane iz tradicionalnih proizvoda, su *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus* i *Lactobacillus plantarum*, dok među koagulaza-negativnim kokama preovladavaju *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus carnosus* i *Kocuria varians*. Pediokoke (*Pediococcus pentosaceus* i *Pediococcus acidilactici*) i

enterokoke su takođe često izolovane iz tradicionalnih fermentisanih kobasica. S obzirom na činjenicu da su se navedene vrste bakterija pokazale tehnološki značajnim prilikom proizvodnje nekih visokokvalitetnih tradicionalnih kobasica, one ulaze u sastav većine komercijalnih starter kultura, a njihove osobine su prikazane u tabeli 2.3. Rast plesni na površini nekih fermentisanih kobasica, prevashodno mediteranskog tipa, je poželjan jer one sprečavaju previše intenzivno sušenje, oksidativne promene i doprinose razvoju tipičnog ukusa. Međutim, neke plesni deluju veoma negativno na zdravlje čoveka, obzirom da proizvode toksične metabolite, mikotoksine. Otuda su selekcionisane i razvijene starter kulture plemenitih netoksikogenih plesni čijom aplikacijom na površini kobasice se ostvaruje pozitivan efekat tokom procesa proizvodnje (Toldrá, 2002; Demeyer, 2004; Hutkins, 2006; Lebert i sar., 2007a; 2007b; Vignolo i sar., 2010).

Posledica dugotrajne upotrebe starter kultura u kojima dominiraju određeni sojevi pomenutih vrsta bakterija je ujednačavanje senzornih karakteristika većine industrijskih fermentisanih kobasica, odnosno gubitak specifičnosti proizvoda. Takođe, vremenom je smanjen bakterijski biodiverzitet. Otuda je izolacija divljih sojeva bakterija radi proizvodnje autohtonih starter kultura trend savremenih mikrobioloških istraživanja vezanih za proizvode od mesa. Autohtone starter kulture sa jedne strane treba da povećaju bezbednost tradicionalnih kobasica, a sa druge da obezbede očuvanje tipičnih senzornih karakteristika ovih proizvoda (Comi i sar., 2005; Aquilanti i sar., 2007; Casaburi i sar., 2007; Talon i sar., 2007; Lebert i sar., 2007a; 2007b; Di Cagno i sar., 2008; Vignolo i sar., 2010).

Tabela 2.3. Osnovna svojstva bakterija koje najčešće ulaze u sastav komercijalnih starter kultura (Hutkins, 2006)

Mikroorganizam	Minimalna temp. (°C)	Optimalna temp. (°C)	Acidifikacija	Redukcija nitrata	Funkcija-nastanak
<i>Lactobacillus sakei</i>	4	32 – 35	+	-	kiselina
<i>Lactobacillus curvatus</i>	4	32 – 35	+	-	kiselina
<i>Lactobacillus plantarum</i>	10	42	+	-	kiselina
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	15	28 – 32	+	-	kiselina
<i>Pediococcus acidilactici</i>	15	40	+	-	kiselina
<i>Kocuria varians</i>	10	25 – 37	-	+	arome
<i>Staphylococcus carnosus</i>	10	30 – 40	-	+	arome
<i>Staphylococcus xylosum</i>	10	25 – 35	-	+	arome

Pored navedenih osnovnih dodataka, u savremenoj industrijskoj proizvodnji fermentisanih kobasica se u cilju poboljšanja senzornih i nutritivnih osobina često koriste i sledeće supstance: prirodne boje, arome, kiseline, glukono-delta-lakton (GDL), dijetna vlakna, inulin, omega-3 masne kiseline i ulja bogata ovim kiselinama, fitosteroli, vitamini i mineralne materije i dr. (Severini i sar., 2003; Ansorena i sar., 2004; Roncalés, 2007; Vasilev i sar., 2009; Vignolo i sar., 2010).

#### **2.4.1.2. OSNOVNE OPERACIJE PROCESA IZRADE**

##### **Priprema mesa i masnog tkiva**

Vrsta, anatomski deo, tehnološki i mikrobiološki kvalitet određuju funkcionalne karakteristike mesa koje se koristi u izradi fermentisanih kobasica. Priprema mesa u savremenoj proizvodnji podrazumeva izbor odgovarajućih anatomskih delova ohlađenih trupova i polutki zaklanih životinja, otkoštavanje, sečenje na manje komade i odstranjivanje mekog masnog i grubljeg vezivnog tkiva. Isečeni komadi mesa i čvrstog masnog tkiva se mogu čuvati u komori za hlađenje sa pojačanom cirkulacijom vazduha, tako da već u toj fazi dolazi do izdvajanja određene količine vode. Komadi mesa takođe mogu biti prethodno usoljeni ili, što je vrlo čest slučaj, smrznuti (Vuković, 2006; Vignolo i sar., 2010).

##### **Usitnjavanje**

Način i stepen usitnjavanja mesa i masnog tkiva zavise od vrste fermentisane kobasice koja se proizvodi. Ohlađeno meso i čvrsto masno tkivo se usitnjavaju na mašini za mlevenje mesa („vuk“), dok se smrznuto ili namrznuto meso i masno tkivo, pošto se prethodno grubo isecku na drobilici, usitnjavaju na uređaju za seckanje mesa („kuter“). Seckanje se obično vrši pod vakuumom, a od brzine rotiranja noževa i okretanja posude zavisi stepen usitnjenosti mesa i masnog tkiva (Toldrá, 2002; Vuković, 2006; Vignolo i sar., 2010).

##### **Mešanje**

U usitnjeno meso i masno tkivo dodaju se soli za salamurenje (NaCl, nitrati/nitriti), drugi aditivi (antioksidansi, GDL, boje), šećeri, začini i starter kulture, te se sve zajedno meša u specijalizovanim uređajima (mešalice, blenderi) ili u kuteru. Operacijom mešanja treba da se postigne ravnomerna raspoređenost svih komponenti u nadevu (Toldrá, 2002; Vuković, 2006; Vignolo i sar., 2010).

### **Punjenje i ceđenje**

Odmah nakon mešanja pristupa se operaciji punjenja nadeva u omotače. Punjenje se najčešće vrši pod vakuumom kako bi se u kobasici uspostavili mikroaerofilni uslovi potrebni za pravilan proces fermentacije i razvoj odgovarajuće boje i ukusa. Omotači mogu biti prirodni i veštački, a bez obzira na poreklo treba da budu dovoljno čvrsti i elastični, propustljivi za dim, vodenu paru i gasove. Prirodni omotači anatomske predstavljaju obrađene delove digestivnog trakta i drugih šupljih organa životinja za klanje. Najčešće se koriste jednjak, želudac, tanka i debela creva goveda, svinja, ovaca, koza i konja. Prirodni omotači treba da budu dobro očišćeni od crevne masti koja ometa proces sušenja kobasica i vremenom oksidiše. Osnovni načini konzervisanja creva su soljenje i sušenje, te se usoljena creva pre upotrebe ispiraju vodom, a suva potapaju u mlaku vodu da bi kolagen nabubrio. Kada su u pitanju veštački omotači koji se koriste u proizvodnji fermentisanih kobasica, onda se govori o kolagenim, celuloznim, tekstilnim i omotačima od polimerizovanog skroba. Sa aspekta higijene, čvrstine i ujednačenosti prečnika veštački omotači imaju prednost, dok su prirodni omotači bolji kada se posmatraju propustljivost vodene pare i gasova, sažvakljivost, svarljivost i prozirnost. Dijametar omotača, bez obzira na vrstu, značajno varira u zavisnosti od tipa kobasice, a najčešće se kreće u rasponu od 30 do 60 mm. Napunjene kobasice se podvezuju kanapom ili klipsaju, kače na štapove i odnose u komore za sušenje i zrenje, gde se neko vreme čuvaju pri nižoj vlažnosti vazduha kako bi se omotači zasušili (ceđenje) i tako pripremili za sledeću operaciju dimljenja (Toldrá, 2002; Savić i Savić, 2004; Vuković, 2006; Vignolo i sar., 2010).

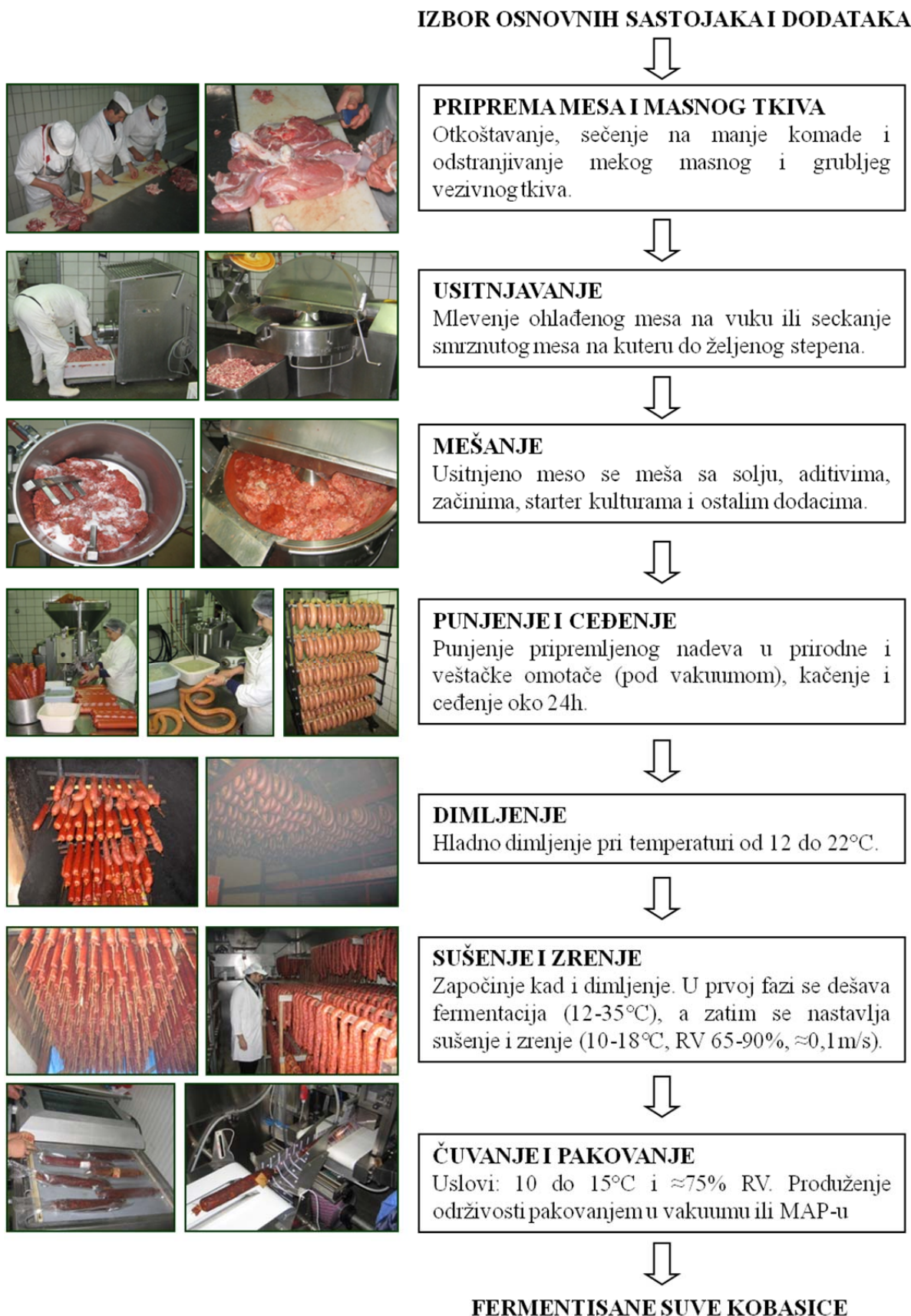
### **Dimljenje**

Dimljenjem se postižu karakteristična aroma i izgled proizvoda, ali i određeni antioksidativni i antimikrobni efekti. Međutim, dimljenje nije obavezna operacija tokom proizvodnje fermentisanih kobasica. Najčešće se dime kobasice severnoevropskog tipa, dok to nije slučaj sa mediteranskim proizvodima Italije i Francuske. Tokom proizvodnje fermentisanih suvih kobasica koristi se postupak hladnog dimljenja gde se temperatura dima najčešće kreće u rasponu od 12 do 22°. U savremenoj preradi mesa dim se proizvodi pomoću dimogeneratora, a kobasice se dime u komorama specijalizovanim za tu namenu, sa mogućnošću regulacije temperature, vlage i količine dima. Nasuprot tome, u tradicionalnim pušnicama dim se dobija sagorevanjem drveta na otvorenom ložištu, a ambijentalni uslovi u pušnici u velikoj meri zavise od spoljašnjih klimatskih uslova. Za proizvodnju dima se najčešće koristi tvrdo listopadno drvo: bukva, hrast, jasen, orah i dr. Međutim, u postupku

dimljenja nekih tradicionalnih kobasica se koristi drvo koštičavog voća (višnja, trešnja, kajsija) ili četinar, koje daje specifičnu crvenu, odnosno crnu boju kobasici, redom. Pored korisnih u dimu se nalaze i neke štetne materije za zdravlje čoveka. To su u prvom redu policiklični aromatični ugljovodonici (PAH), čiji sadržaj odgovarajućom proizvodnjom i obradom dima, te optimizacijom samog procesa dimljenja može biti sveden na minimum (Toldrá, 2002; Vuković, 2006; Petrović i sar., 2007; Ikonić, 2010; Vignolo i sar., 2010).

### **Sušenje i zrenje**

Odmah nakon punjenja, a istovremeno sa dimljenjem (ukoliko se primenjuje), započinje operacija sušenja i zrenja kobasica. Cilj ove operacije je dostizanje željene aktivnosti vode i razvoj karakterističnog mirisa, ukusa i izgleda. Sušenje i zrenje se obavlja u komorama opremljenim agregatima za kondicioniranje vazduha za sušenje, odnosno regulaciju temperature, relativne vlažnosti i brzine strujanja vazduha. Kako je već navedeno u poglavlju 2.2, sušenje je ključna operacija tokom proizvodnje fermentisanih kobasica jer predstavlja najvažniji postupak konzervisanja, koji određuje održivost ovih proizvoda. Tokom sušenja smanjuju se sadržaj vode i  $a_w$  vrednost i usporava aktivnost tkivnih enzima, a konzistencija kobasice postaje čvršća. Smanjivanjem  $a_w$  vrednosti inhibira se rast većine bakterija prisutnih u kobasici. Sušenje treba da teče polako i ujednačeno, odnosno razlika između relativne vlažnosti vazduha i napona vodene pare na površini kobasice (pokretačka sila procesa sušenja) ne sme da bude previše velika. Ukoliko je ta razlika velika brzina isparavanja vode sa površine kobasice u okolni vazduh (spoljašnja difuzija) je značajno veća od brzine migracije vode iz centra kobasice ka periferiji (unutrašnja difuzija), te dolazi do bržeg sušenja površine kobasice. Posledica takvog sušenja je nastanak suvog ruba (prsten) ispod omotača, koji najpre usporava, a kasnije i zaustavlja sušenje. Dakle, za optimalno odvijanje procesa sušenja potrebno je da unutrašnja i spoljašnja difuzija teku sličnom brzinom. Praktično pravilo za postizanje takvog toka sušenja podrazumeva održavanje relativne vlažnosti vazduha za 5 do 10% nižom u odnosu na  $a_w$  vrednost kobasice (izraženu u procentima). Generalno, temperatura vazduha u fazi sušenja i zrenja se održava u intervalu od 10 do 18°C (osim u fazi fermentacije kada je nešto viša), relativna vlažnost vazduha se postepeno smanjuje od 90 do 65%, a brzina strujanja vazduha se održava oko vrednosti 0,05-0,1m/s, kako bi u čitavoj komori vladali jednaki uslovi. Na brzinu procesa sušenja pored termo-higrometrijskih uslova u komori utiču i karakteristike same kobasice. Najznačajniji su vrednost pH i dijametar kobasice, ali treba uzeti u obzir i sadržaj masnog tkiva u kobasici, veličinu partikula mesa i masnog tkiva (stepen usitnjenosti), veličinu pora i propustljivost



Slika 2.37. Dijagram toka proizvodnje fermentisanih suvih kobasica u industriji

omotača, kao i eventualno prisustvo plesni na površini kobasice (Toldrá, 2002; Vuković, 2006; Vignolo i sar., 2010).

Tokom ove operacije, istovremeno sa fizičkom promenom izazvanom dehidratacijom proizvoda, u kobasicama se odvijaju procesi fermentacije i zrenja, koji predstavljaju skup složenih biohemijjskih promena čijim nastankom se sirovi nadev transformiše u dugotrajan, stabilan i bezbedan proizvod optimalne nutritivne vrednosti i senzornog kvaliteta, odnosno proizvod otporan na kvar, bogate arome, definisane teksture i stabilne boje. Prvu fazu ove operacije karakteriše proces fermentacije (temperatura 12 - 35°C), koji se dešava usled aktivnosti prirodno prisutnih ili dodatih bakterija mlečne kiseline. To je veoma značajan biohemijjski proces razlaganja ugljenih hidrata do organskih kiselina, a glavni produkt je mlečna kiselina. Usled nastanka i akumulacije mlečne kiseline u kobasici opada vrednost pH, što povoljno utiče na dalji tok sušenja i zrenja, inhibiciju nepoželjnih mikroorganizama i formiranje poželjnih senzornih svojstava. U zavisnosti od visine temperature okolnog vazduha fermentacija može da traje od svega nekoliko sati (neke polusuve fermentisane kobasice), pa do deset i više dana u tradicionalnim kobasicama čiji proces proizvodnje se odvija pri veoma niskim temperaturama (Toldrá i sar., 2001; Toldrá, 2002; 2006b; 2006c; Demeyer, 2004; Vuković, 2006; Petäjä-Kanninen i Puolanne; 2007).

Za proces zrenja se može reći da traje od momenta izrade sirovog nadeva pa sve do momenta konzumiranja kobasice. Naime, ovaj proces podrazumeva promene na proteinima i lipidima mesa, odnosno procese proteolize i lipolize koji se dešavaju posredstvom delovanja enzima mišićnog i masnog tkiva, kao i enzima mikrobnog porekla. S obzirom da proces proteolize predstavlja najznačajniju grupu biohemijjskih promena tokom prerade mesa kao i da je predmet izučavanja u ovom radu, on je detaljno opisan i objašnjen u poglavlju 2.3. Međutim, lipoliza je takođe veoma značajan biohemijjski proces koji se dešava tokom zrenja fermentisanih kobasica, a usled kojeg dolazi do razlaganja triglicerida i fosfolipida delovanjem lipaza i fosfolipaza, pri čemu nastaju slobodne masne kiseline (Gandemer, 2002; Toldrá; 2002; 2006a; 2006d; 2007).

Nastankom slobodnih masnih kiselina lipoliza direktno utiče na razvoj arome. Takođe, usled oksidacije nastalih slobodnih masnih kiselina nastaju hidroperoksidi, čijim se daljim razlaganjem formiraju sekundarni produkti oksidacije (aldehidi, ketoni, alkoholi, estri i dr.), odnosno aromatična isparljiva jedinjenja koja utiču na aromu zrelog proizvoda. Razlaganje triglicerida utiče i na teksturu masnog tkiva, a intenzivna lipoliza/oksidacija može doprineti razvoju užeglosti i žute boje masti. Kako je već rečeno, lipoliza se tokom procesa proizvodnje

suvih fermentisanih kobasica odvija usled kombinovanog delovanja lipolitičkih enzima mišićnog i masnog tkiva i lipaza poreklom iz mikroorganizama. Najvažnije mišićne lipaze su lizozomske lipaze i fosfolipaze sa optimalnim delovanjem u kiseloj sredini, dok su to u masnom tkivu hormon senzitivne lipaze i monoacilglicerol lipaze. Ovi enzimi pokazuju dobru stabilnost tokom čitavog procesa proizvodnje, iako njihova aktivnost varira u zavisnosti od vrednosti pH, sadržaja soli, temperature zrenja i aktivnosti vode. Neke vrste bakterija iz roda *Micrococaceae* (*Staphylococcus*, *Kocuria*) pokazuju lipolitičku aktivnosti, te i zbog te osobine ulaze u sastav mnogih komercijalnih starter kultura. Količina ekstra- i intracelularnih lipolitičkih enzima koje proizvode zavisi od soja, supstrata i raznih drugih faktora (Toldrá, 1998; Toldrá i Flores 1998; Toldrá i sar., 2001; Toldrá; 2002; 2006a; 2006b; 2006c; 2007; Gandemer, 2002; Toldrá i Reig, 2006; Casaburi i sar., 2007; Krkić i sar., 2013).

### Čuvanje i pakovanje

Nakon operacije sušenja i zrenja proces proizvodnje fermentisanih kobasica je završen, a dobijeni proizvodi su spremni za konzumiranje. Do otpremanja na tržište kobasice se čuvaju (skladište) u komorama sa konstantnom temperaturom (15°C) i relativnom vlažnosti vazduha ( $\approx 75\%$ ), u kojoj je cirkulacija vazduha svedena na minimum. Međutim, pod uticajem okolnog vazduha nastavlja se dehidracija kobasica koja negativno utiče kako na senzorna svojstva proizvoda (naboranost površine omotača, tamna boja, suviše tvrda konzistenija), tako i na ekonomski efekat proizvodnje, s obzirom da dolazi do prekomernog gubitka mase. Takođe, pod uticajem kiseonika dolazi do oksidativnih procesa koji narušavaju senzorni kvalitet pojavom užeglog mirisa i ukusa, a takođe utiču i na hranljivu vrednost kobasice razlaganjem vitamina, polinezasićenih esencijalnih masnih kiselina ili čak ti procesi mogu dovesti do nakupljanja toksičnih jedinjenja. U cilju produženja održivosti ovih proizvoda, u savremenoj industriji mesa se primenjuju metode pakovanja u anaerobnim uslovima, odnosno vakuum pakovanje i pakovanje u modifikovanoj atmosferi. Pored produženja roka trajanja ove vrste pakovanja daju atraktivan izgled proizvoda u maloprodaji. Za pakovanje u vakuumu i modifikovanoj atmosferi koriste se filmovi visoko barijerni za kiseonik i vodenu paru, te se na taj način sprečava ili odlaže gubitak kvaliteta tokom skladištenja. Dakle, s obzirom da su promene u aromi i boji proizvoda tokom skladištenja posledica hemijske oksidacije, ključno je eliminisati kiseonik iz pakovanja fermentisanih kobasica kako bi se obezbedila njihova veća održivost (Ansorena i Astiasarán, 2004; Toldrá i sar., 2004; Dong i Byungrok, 2007; Rubio i sar., 2008; Summo i sar., 2010).



## 2.4.2. SENZORNA SVOJSTVA FERMENTISANIH KOBASICA

Najznačajnija senzorna svojstva fermentisanih kobasica su izgled, miris i ukus i tekstura. Ove osobine proizvoda, a posebno onih izrađenih na tradicionalan način, zavise od velikog broja faktora, od kojih su najznačajniji: vrsta i kvalitet upotrebljenog mesa i masnog tkiva, izbor i količina dodataka, način izrade, aktivnost prisutne endogene mikroflore, brzina i intenzitet procesa dimljenja i sušenja, odnosno klimatski/ambijentalni uslovi sredine (temperatura, relativna vlažnost i cirkulacija vazduha), te dužina i stepen zrenja (proteoliza i lipoliza) (Vuković, 2006; Roseiro i sar., 2008; Karan, 2009; Spaziani i sar., 2009; Petrović i sar., 2011).

Prvi utisak o kvalitetu fermentisane kobasice se stiće na osnovu vizuelnog doživljaja, odnosno veličine, oblika, boje i sjaja proizvoda, bilo u omotaču ili u nekom od spomenutih ambalažnih materijala. Takođe, pri proceni senzornog kvaliteta kobasice potrebno je uzeti u obzir i izgled preseka, tj. veličinu, ujednačenost i raspoređenost komadića mišićnog i masnog tkiva, boju, povezanost i eventualno prisustvo rupica (Radovanović i Popov-Raljić, 2001; Nilsen i Rødbotten, 2007).

Boja svakako predstavlja jedan od najznačajnijih vizuelnih pokazatelja kvaliteta. Njen intenzitet može da varira u zavisnosti od sjaja površine, te tokom evaluacije ovog svojstva kobasice treba uzeti u obzir udaljenost i ugao pod kojim se nalazi izvor svetlosti. Kao što je prethodno već rečeno, boja spoljašnje površine kobasice pre svega zavisi od vrste i kvaliteta omotača, načina i intenziteta dimljenja (vrsta drveta) i sušenja, te eventualnog prisustva kolonija plesni. Stabilna crvena boja nadeva fermentisanih kobasica potiče od nitrozilmioglobina (Mb-NO), koji nastaje reakcijom između nitrita i mioglobina. Formiranje boje i stabilizacija zavise od mnogobrojnih faktora, a najvažniji su: vrsta i kvalitet mesa, vrsta i količina dodate soli za salamurenje, količina i svojstva masnog tkiva, temperatura fermentacije i zrenja, dodatak antioksidanata, prisustvo odgovarajućih vrsta bakterija (*Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Kocuria*, *Pseudomonas*) koje imaju sposobnost redukcije nitrata u nitrite, dodatak začina i dr. Optimalne uslove za formiranje nitrozilmioglobina stvara mikroflora kobasice, i to na početku zrenja aerobne bakterije koje troše kiseonik, snižavaju redoks-potencijal (Eh), te stvaraju redukujuće uslove u kobasici, a kasnije i mikroaerofilne vrste koje fermentišu šećere do mlečne kiseline i snižavaju pH vrednost. Niža vrednost pH, utiče na veći stepen iskorišćenja nitrita, odnosno stepen konverzije mioglobina u NO produkte, što doprinosi razvoju optimalne boje proizvoda. Međutim, ukoliko je vrednost pH suviše niska, reduktivne bakterije se ne razvijaju i ne dolazi do redukcije nitrata, odnosno

stvaranja Mb-NO. Crvena začinska paprika, dodata u nadev, takođe doprinosi prijatnom vizuelnom utisku boje fermentisanih kobasica (Radovanović i Popov-Raljić, 2001; Vuković, 2006; Nilsen i Rødbotten, 2007; Møller i Skibsted, 2007; Petrović i sar., 2011).

Ukus i miris fermentisanih kobasica su veoma značajna senzorna svojstva, od kojih u najvećoj meri zavisi ukupan stepen prihvatljivosti proizvoda. Iako u većini slučajeva postoji visoka korelacija između ova dva pokazatelja senzornog kvaliteta, u nekim situacijama ukus nije praćen odgovarajućim mirisom. Ova pojava se javlja usled činjenice da ljudski nos može da oseti isparljiva jedinjenja jedino u prisustvu odgovarajuće količine vlage. Otuda je miris sveže presečene kobasice veoma intenzivan jer dolazi do isparavanja velike količine vlage pomešane sa isparljivim jedinjenjima koja daju taj miris (Nilsen i Rødbotten, 2007). U evropskim suvim fermentisanim kobasicama je identifikovano oko 400 isparljivih mirisnih jedinjenja koja mogu biti svrstana u sledeće grupe: alkoholi, aldehidi, estri, ketoni, aromatična jedinjenja, sumporna jedinjenja, azotna jedinjenja i terpeni. Svakom od ovih isparljivih jedinjenja je dodeljen odgovarajući deskriptor, koji ga povezuje sa nekim poznatim mirisom. Tako je na primer prisustvo sumpornih jedinjenja (diallildisulfid, metilallil sulfid, diallil sulfid) povezano sa upotrebom i mirisom belog luka, terpena ( $\alpha$ -Pinen) sa biberom, a nekih fenola (2-Metoksifenol (gvajakol), 2-Metoksi-4-metilfenol (metil gvajakol)) sa dimom. Samo dva isparljiva jedinjenja (sumporna), odnosno njihov miris, su direktno povezana sa mirisom fermentisanih kobasica, i to: allil-1-tiol (miris salame, zrelog mesa) i metil-tiran (miris salame, crnog luka). Međutim, kombinacijom gasne hromatografije i olfaktorne tehnike (čulo mirisa) utvrđeno je da je miris salame u korelaciji sa prisustvom etil estara i metil ketona, kao i 2-metil propanal-a i 2- i 3-metilbutanal-a (Tjener i Stahnke, 2007).

Ukus fermentisanih kobasica je kompleksno senzorno svojstvo koje je dominantno rezultat prisustva neorganskih soli, šećera, derivata ATP-a, organskih kiselina, slobodnih amino kiselina i malih peptida, te slobodnih masnih kiselina i produkata njihove oksidacije. O solima i šećerima koji se koriste u proizvodnji fermentisanih kobasica je već bilo reči. IMP (inosine monofosfat) je glavni derivat ATP-a u postrigoralnom mesu, koji se tokom zrenja kobasica postepeno konvertuje u inozin, i dalje u hipoksantin. Hipoksantin se dovodi u vezu sa gorkim ukusom zrelog svinjskog mesa. L- i D-mlečna kiselina su dominantne organske kiseline koje doprinose kiselom ukusu fermentisanih kobasica, čiji sadržaj u evropskim proizvodima ovog tipa varira od 0,4 do 3,1 g/100g suve materije. Pored mlečne kiseline u fermentisanim kobasicama se mogu naći i sirćetna, propionska, buterna i mravlja kiselina, koje doprinose neprijatnom kiselom ukusu kobasice, a nastaju kao rezultat aktivnosti

heterofermentativnih bakterija. Slobodne amino kiseline i mali peptidi mogu uticati na pojavu slatkog, kiselog, gorkog i umami ukusa. Nakupljanje hidrofilnih peptida tokom zrenja povezuje se sa ukusom kobasica, ali nakupljanje hidrofobnih peptida u velikim koncentracijama odgovorno je za gorak ukus i nepoželjnu aromu. Hidroliza lipida, odnosno nastanak slobodnih masnih kiselina i produkata njihove oksidacije takođe doprinosi nastanku karakterističnog ukusa fermentisanih proizvoda od mesa. Takođe, upotreba različitih vrsta i količina začina dodatno doprinosi razvoju specifičnog ukusa proizvoda (Díaz i sar., 1997; Toldrá, 2002; Vuković, 2006; Tjener i Stahnke, 2007).

Iako danas postoje moderni uređaji za objektivno merenje različitih svojstava teksture, usta, odnosno mišići vilice, kutnjaci i pljuvačka, i dalje predstavljaju jedinstveni sistem za procenu ovog važnog senzornog svojstva kobasica i generalne prihvatljivosti proizvoda od strane potrošača. Razvoj željene teksture fermentisanih kobasica je kompleksan višefazni proces koji može da traje od nekoliko dana do nekoliko meseci, a tri osnovna koraka tog procesa su: ekstrakcija proteina pod uticajem dodate soli, formiranje proteinskog gela tokom acidifikacije i ojačavanje tog gela daljom denaturacijom proteina tokom sušenja. Naime, rastvoreni proteini na površini komadića mišićnog tkiva prelaze u gel kada pH opadne do predela izolektrične tačke aktomiozina ( $\approx 5,3$ ), te dolazi do slepljivanja partikula mesa i povezivanja nadeva u kompaktnu celinu. Proces geliranja prati sinerezis, tj. izdavanje vode iz strukture proteina, što ubrzava sušenje i doprinosi formiranju čvršće konzistencije kobasica. S opadanjem sadržaja vode u toku sušenja, konzistencija kobasica postaje čvršća. Međutim, razvoj poželjne teksture je zapravo rezultat balansa između procesa koji doprinose većoj čvrstoći (sušenje) i onih koji dovode do omekšavanja, odnosno razgradnje proteina (zrenje) (Vuković, 2006; Barbut, 2007).

## 2.5. PETROVAČKA KOBASICA (*Petrovská klobása*)

*Petrovačka kobasica (Petrovská klobása)* je tradicionalna suva fermentisana kobasica koja se proizvodi u Bačkom Petrovcu i njegovoj okolini (Opština Bački Petrovac, AP Vojvodina). Ova kobasica predstavlja deo kulturnog nasleđa Slovaka, koji su u drugoj polovini 18. veka naselili prostore Vojvodine, a koji je i danas proizvode na tradicionalan način i prema originalnoj recepturi svojih predaka (Petrović i sar., 2007; Ikonić i sar., 2010). Nakon dugotrajnih ratova Austrougarskog i Otomanskog carstva, u 18. veku dolazi do oslobađanja južnih krajeva Ugarske, te ukidanja vojne granice 1745. godine. To je omogućilo naseljavanje pustih delova Bačke od strane Slovaka, Rusina, Nemaca, Mađara, Čeha i ostalih naroda, koji i danas čine multietničko društvo Vojvodine. Prvi Slovaci dolaze 1745. godine u opustošeni Petrovac, varošicu koja je tokom vremena postala kulturno i crkveno središte Slovaka. Specifikum slovačkog življa, pored kulturnih i običajnih vrednosti, čini i napredna poljoprivreda, zanatstvo i kulinarsvo (Petrović i sar., 2007).

Tradicionalna *Petrovačka kobasica (Petrovská klobása)* postala je simbol Slovaka iz Bačkog Petrovca i okoline. Istorija ovog suvog fermentisanog proizvoda od mesa seže u daleke godine 18. veka, kada je tokom pomenutih ratova prestala trgovina sa Turskom zbog opsadnog stanja na granicama. Turska tada Austrougarskoj nije isporučivala začine, a naročito veoma cenjeni biber, koji se u to vreme stavlja u mnoga jela, pa tako i u kobasicu izrađenu od svinjskog mesa. Ovu situaciju su najviše osetili stanovnici iz južnih delova Ugarske, a naročito iz okoline Segedina, tj. Bekeščabe i Sarvaša, mesta naseljenih Slovacima. Pošto se na tom području gajila crvena, ljuta paprika ona je vremenom zamenila dugo korišćeni ali skupi i nedostižni biber, koji se do tada stavlja u kobasice. Iz Bekeščabe i Sarvaša, nakon 1745. godine, mnoge porodice tamošnjih Slovaka se preseljavaju u južnije krajeve: Petrovac, Kisač, Gložan, Kulpin, i donose iskustvo korišćenja novog začina u izradi svinjske sušene fermentisane *Petrovačke kobasice* (Petrović i sar., 2007).

*Petrovačka kobasica* se prvi put službeno pominje na velikoj izložbi poljoprivrednih proizvoda 1873. godine u Beču. Među 53000 izlagača svoje mesto su našli i predstavnici Slovaka iz Bačkog Petrovca, koji su sa ponosom pokazali svetu svoju kvalitetnu tradicionalnu fermentisanu ljutu kobasicu (Petrović i sar., 2007; <http://www.expo2000.de>).

Tradicionalno, *Petrovačka kobasica* se u seoskim domaćinstvima izrađuje tokom zimskih meseci kada je temperatura vazduha oko 0°C ili nešto niža, što uslovljava veoma spore procese fermentacije, sušenja i zrenja (do 120 dana).

Osnovni sastojci za proizvodnju *Petrovačke kobasice* su svinjsko meso prve i druge kategorije (85%) i čvrsto masnog tkivo (15%) normalnog kvaliteta, a dodaci su crvena ljuta začinska paprika - prah (2,5%), kuhinjska so (1,8%), beli luk (svež, pasiran) (0,2%), kim (0,2%) i konzumni kristal šećer (0,15%). Kada su svi dodaci u odgovarajućim količinama dodati u masu usitnjenog mišićnog i masnog tkiva pristupa se tradicionalnom načinu ručnog mešanja. Karakterističan potez kod mešanja nadeva za *Petrovačku kobasicu* je tzv. „svlačenje“, tj. prebacivanje mase nadeva sa jedne gomile na drugu, u veoma tankim slojevima, horizontalnim pokretima ruke. Tako se postiže izuzetno efikasno mešanje što je i neophodno kako bi se velika količina paprike uniformno rasporedila unutar mase nadeva. Postupak mešanja traje dok se ne postigne homogena smeša, koju karakterišu već vidno slepljene partikule osnovnih sastojaka, a to se procenjuje empirijski. Nadev se zatim puni u zadnji deo dobro opranih i očišćenih svinjskih debelih creva (pravo crevo) ili u kolagene omotače dijametra 55-65mm. Nakon punjenja kobasice se oko 24h cede, a potom se dime hladnim postupkom 10-15 dana, sa pauzama, u zavisnosti od spoljašnjih klimatskih prilika, uz korišćenje specifičnih vrsta drveta (višnja, trešnja, kajsija). Po završetku dimljenja kobasica se čuva na suvom i prozračnom mestu radi sušenja i zrenja, do



Slika 2.38. *Petrovačka kobasica* u prirodnom i veštačkom kolagenom omotaču

postizanja optimalnog kvaliteta, za šta je potrebno oko 4 meseca (Petrović i sar., 2007; Ikonić i sar., 2010; Petrović i sar., 2011).

Dakle, u procesu proizvodnje *Petrovačke kobasice* se ne koriste hemijski aditivi (nitrati/nitriti, GDL, antioksidansi, boje i dr.) i komercijalne starter kulture, te se procesi fermentacije, redukcije prirodno prisutnih nitrata u nitrite, proteolize i lipolize odvijaju pod dejstvom autohtonih mikroorganizama specifičnih za lokalitet izrade. Zahvaljujući naglašenim, specifičnim i prepoznatljivim senzornim svojstvima, među kojima dominira intenzivna crvena boja, pikantno ljut ukus i aroma zrelog svinjskog mesa, sa notom belog luka, kima i dima, *Petrovačka kobasica* je veoma omiljena među potrošačima, te je 2007. godine, nakon višegodišnjih istraživanja, dokazana i ozvaničena uzročno-posledična veza između prirodnih i društvenih osobenosti Opštine Bački Petrovac i jedinstvenih parametara kvaliteta ove kobasice. *Petrovačka kobasica* je zaštićena oznakom geografskog porekla (ime porekla), prema nacionalnom zakonu o oznakama geografskog porekla, a u registru Zavoda za intelektualnu svojinu Republike Srbije je zavedena pod rednim brojem 44 (Rešenje broj: 9652/06 Γ-03/06, 21. 05. 2007. godine; <http://www.zis.gov.rs>) (Petrović i sar., 2007; Ikonić i sar., 2010; Danilović i sar., 2011; Petrović i sar., 2011).

Vrhunski kvalitet *Petrovačke kobasice* je potvrđen visokim priznanjima za kvalitet na više takmičenja i manifestacija, a najznačajnije su zlatne medalje za kvalitet osvojene prilikom ocenjivanja na Međunarodnom poljoprivrednom sajmu u Novom Sadu 2006, 2007. i 2008. godine.

### 3. ZADATAK RADA

Uloga tradicionalnih prehrambenih proizvoda u pogledu očuvanja raznovrsnosti hrane, odnosno etno-gastronomskog nasleđa različitih zajednica, te razvoja ruralnih područja kroz povećanje obima proizvodnje i plasmana, detaljno je opisana u poglavlju Uvod i Pregled literature. Takođe, navedeni su i problemi sa kojima se susreću mali, tradicionalni proizvođači pokušavajući prvenstveno da zadovolje sve oštrije kriterijume zakonske regulative u pogledu bezbednosti hrane, a zatim i da postignu veću konkurentnost, odnosno nižu cenu koštanja tradicionalnog proizvoda uz očuvanje jedinstvenih kvalitativnih osobina. U tom pogledu istaknut je zadatak nauke da sagleda i objasni osobenosti tradicionalnih tehnologija, te da na osnovu stečenih znanja, a na ekonomski prihvatljiv način, razvije proces proizvodnje bezbednog proizvoda u odgovarajućim higijensko-sanitarnim uslovima, uz očuvanje specifičnog i prepoznatljivog kvaliteta.

Ovo je slučaj i sa *Petrovačkom kobasicom (Petrovska klobása)*, tradicionalnom suvom fermentisanom kobasicom iz Severne Srbije (Opština Bački Petrovac), koja je zaštićena imenom porekla na nacionalnom nivou. Kako bi se postigla veća konkurentnost i značajniji plasman ove kobasice uz standardizaciju kvaliteta i očuvanje specifičnih karakteristika, zahvaljujući kojima je i stekla visoku reputaciju i značaj, potrebno je pre svega uspostaviti njenu proizvodnju u uslovima registrovanog objekta za preradu mesa, zatim povećati proizvodne serije, skratiti period izrade i omogućiti proizvodnju tokom čitave godine, ili barem tokom većeg dela godine. U tom smislu, primarno je detaljno izučiti procese sušenja i zrenja *Petrovačke kobasice* tokom izrade u **tradicionalnim uslovima** seoskog domaćinstva (spontani uslovi), a zatim na osnovu prikupljenih podataka razviti i implementirati optimalan model sušenja i zrenja ove kobasice u **kontrolisanim uslovima** registrovanog zanatskog ili industrijskog objekta za preradu mesa.

Polazeći od prethodno navedenih činjenica, odlučeno je da se u okviru ove doktorske disertacije tokom **tri proizvodne sezone** izradi **devet modela** *Petrovačke kobasice* kako bi se ispitao uticaj različitih varijabilnih faktora:

- Proizvodna sezona (godina i mesec proizvodnje),
- Vreme otkoštavanja mesa *post mortem* (toplo i hladno meso),

- Način mešanja nadeva (ručno i mašinski),
- Uslovi sušenja i zrenja (tradicionalni i kontrolisani),
- Dodatak starter kulture,
- Način pakovanja (u vakuumu i modifikovanoj atmosferi),

na intenzitet i brzinu procesa sušenja i zrenja, a posledično i na kvalitet finalnih proizvoda.

U različitim fazama proizvodnje, od izrade sirovog nadeva (0. dan) do završetka procesa dimljenja, sušenja i zrenja kobasica (120. dan), određenom dinamikom će se ispitati:

**A.** Uticaj prethodno navedenih varijabilnih faktora na **KINETIKU PROCESA SUŠENJA** *Petrovačke kobasice*, odnosno na brzinu unutrašnje i spoljašnje difuzije vlage, određivanjem sledećih pokazatelja:

1. Gubitka mase sušenjem – kala sušenja (%),
2. Smanjenja dijametra kobasica,
3. Aktivnosti vode u kobasicama ( $a_w$ ),
4. Sadržaja vlage u kobasicama,
5. Sadržaja ukupnog pepela u kobasicama.

Takođe, na osnovu prethodno definisanih pokazatelja i prikupljenih podataka ispitaće se mogućnost primene nekih regresionih matematičkih modela za opisivanje i definisanje zavisnosti smanjenja ukupnog sadržaja vlage u kobasici od vremena sušenja.

**B.** Uticaj prethodno navedenih varijabilnih faktora na **INTENZITET I BRZINU ZRENJA** određivanjem sledećih pokazatelja proteolize:

1. Sadržaja proteina – ukupnog azota (engl. *Total nitrogen*, TN),
2. Sadržaja neproteinskog azota (engl. *Non-protein nitrogen*, NPN),
3. Indeksa proteolize (IP),
4. Sadržaja  $\alpha$ -aminokiselinskog azota ( $\text{NH}_2\text{-N}$ ),
5. Kvalitativnog i kvantitativnog sastava ekstrakata sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina.



Tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja redovno će se pratiti i vrednost pH u kobasicama, s obzirom da ona predstavlja jedan od najvažnijih pokazatelja biohemijskih promena, koje značajno utiču kako na proces sušenja tako i zrenja, odnosno proteolize.

C. Radi pravilne interpretacije dobijenih rezultata, odnosno odabira najboljeg (optimalnog) modela sušenja i zrenja kobasica u tradicionalnim uslovima, te procene nivoa uspešnosti implementacije tog modela u kontrolisanim uslovima, ispitaće se **NEKI POKAZATELJI KVALITETA PETROVAČKE KOBASICE**, uslovljeni različitim procesnim parametrima, i to:

1. Tekstura – čvrstoća (probijanjem) i
2. Senzorni kvalitet

svih izrađenih modela *Petrovačke kobasice*.

## 4. MATERIJAL I METODE RADA

### 4.1. MATERIJAL RADA

Za potrebe istraživanja u okviru ove doktorske disertacije, čiji cilj je bio razvoj procesa sušenja i zrenja tradicionalne suve fermentisane kobasice u kontrolisanim uslovima registrovanog objekta za preradu mesa, tokom tri proizvodne sezone je izrađeno devet modela *Petrovačke kobasice*.

Mesto izrade nadeva *Petrovačke kobasice* je u sve tri sezone bio Bački Petrovac, a njegova osnovna formulacija je uvek bila konstantna. Naime, u Tehnološkom elaboratu (Petrović i sar., 2007), Bački Petrovac je definisan kao centar teritorije na kojoj može da se izrađuje ovaj proizvod zaštićen oznakom geografskog porekla, a kvalitativni sastav nadeva i tradicionalni postupak proizvodnje je detaljno opisan. Na osnovu pomenutog elaborata i uz saglasnost članova Zemljoradničke zadruge „Kulen“ iz Bačkog Petrovca (nosioci zaštite oznake geografskog porekla) definisan je i kvantitativni standard prema kojem se proizvodi *Petrovačka kobasica*, a isti je korišćen pri izradi nadeva u okviru ovog rada.

Prilikom izrade nadeva za kobasice upotrebljeno je svinjsko meso prve i druge kategorije (85%) i čvrsto masno tkivo (15%) dobijeno klanjem i obradom domaćih mesnatih belih svinja, uzgojenih u Bačkom Petrovcu, starosti 9 - 12 meseci i mase 135 - 200kg. Na masu usitnjenog mišićnog i masnog tkiva ( $\varnothing \approx 10$  mm) dodati su sledeći sastojci u definisanim količinama:

- |  |        |
|--|--------|
| 1. crvena ljuta mlevena začinska paprika | 2,50%, |
| 2. kuhinjska so                          | 1,80%, |
| 3. beli luk (usitnjen - svež)            | 0,20%, |
| 4. kim                                   | 0,20%, |
| 5. kristal šećer                         | 0,15%. |



Slika 4.1. Začini i dodaci koji se koriste pri izradi nadeva *Petrovačke kobasice*

Zatim je usledio tradicionalni postupak ručnog mešanja nadeva (opisan u poglavlju 2.5) do postizanja homogene mase. Samo u jednom slučaju izrade kobasica (druga sezona) masa je mašinski mešana kako bi se ispitalo da li takav način proizvodnje ima uticaja na kvalitet izrađenih proizvoda.

Odmah nakon mešanja nadev *Petrovačke kobasice* je napunjen u veštačke kolagene omotače dužine 500 mm i dijametra 55 mm, nakon čega su kobasice okačene i oko 24 h ostavljene u hladnoj prostoriji radi ceđenja.

Proces dimljenja *Petrovačke kobasice* u tradicionalnim uslovima je trajao oko 10 dana, 4-8 časova dnevno. Specifičnost ovog procesa je upotreba drveta koštičavog voća (višnja, trešnja i kajsija) koje nije karakteristično za tradicionalnu praksu dimljenja proizvoda od mesa u drugim regionima. U kontrolisanim uslovima, u svakoj proizvodnoj sezoni, dimljenje je obavljeno po postupku koji je uobičajen za registrovani objekat u kojem je eksperiment izveden.



Slika 4.2. Dimljenje, sušenje i zrenje *Petrovačke kobasice* u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

U prvoj sezoni pripremljeno je 3 modela *Petrovačke kobasice* u domaćinstvima dva zadrugara na tradicionalan način, polovinom meseca decembra. U domaćinstvu prvog zadrugara (A) nadev je izrađen od **toplog mesa** ( $\approx 3$  h *post mortem*). Nasuprot prvom, u drugom domaćinstvu (B) nadev je izrađen od **ohladenog mesa** (24 h *post mortem*). Dalji tok proizvodnje kobasica u oba domaćinstva obavljen je na isti način. Kobasice proizvedene u prvom domaćinstvu (**A2**) kao i polovina kobasica proizvedenih u drugom domaćinstvu (**B2**) podvrgnute su procesima dimljenja, sušenja i zrenja na **tradicionalan način**. Druga polovina kobasica izrađenih u drugom domaćinstvu (**B4**) podvrgnuta je procesu dimljenja, sušenja i zrenja u **kontrolisanim (industrijskim) uslovima**. Tokom prva tri dana sušenja u industrijskoj komori (10°C i RV 90%) kobasice su, uz odgovarajuće pauze, ukupno 6 časova bile izložene dimu (12 x 30 min.) dobijenom pirolizom bukovog drveta. Nakon dimljenja,

sušenje je nastavljeno pri temperaturi od 10°C, ali je relativna vlažnost vazduha smanjena na 75% kako bi se intenzivirao proces sušenja, sa namerom da se željeni sadržaj vlage u kobasicama (<35%) postigne već nakon 45 dana. Nakon završetka procesa sušenja sve proizvedene grupe kobasica podeljene su na tri podgrupe. Prva podgrupa kobasica čuvana je neupakovana, dok su druga i treća podgrupa upakovane u vakuumu (V) i u modifikovanoj atmosferi (M) (30% CO<sub>2</sub> i 70% N<sub>2</sub>), respektivno, i tako čuvane u industrijskoj prostoriji za skladištenje (15°C i RV 75%) do 120. dana radi zrenja.

U drugoj proizvodnoj sezoni izrađeno je 2 modela *Petrovačke kobasice*. Uzorci su napravljeni u registrovanom zanatskom objektu za preradu mesa u Bačkom Petrovcu, od ohlađenog mesa, polovinom meseca decembra. Kao što je već napomenuto, tokom izrade ovih eksperimentalnih grupa kobasica variran je način mešanja prilikom izrade sirovog nadeva (**C2 - ručno** i **C3 - mašinski**). Procesi dimljenja sušenja i zrenja izrađenih grupa kobasica su takođe realizovani u **zanatskom objektu**. Dimljenje je obavljeno na isti način kao i u tradicionalnim uslovima. Dim je dobijen sagorevanjem drveta koštičavog voća na otvorenom ložištu, a sam proces je trajao 10 dana sa prekidima. Potom su kobasice prenete u klimatizovanu prostoriju za sušenje, gde je implementiran takav model sušenja (definisan na osnovu saznanja iz prethodne sezone) koji je za 60 dana trebao da obezbedi sadržaj vode u kobasicama manji od 35%. Kao i u prvoj proizvodnoj sezoni, kobasice su nakon završetka procesa sušenja čuvane neupakovane, upakovane u vakuumu i modifikovanoj atmosferi (30% CO<sub>2</sub> i 70% N<sub>2</sub>) do 120. dana proizvodnje, pri 15°C i 75% relativne vlažnosti vazduha.

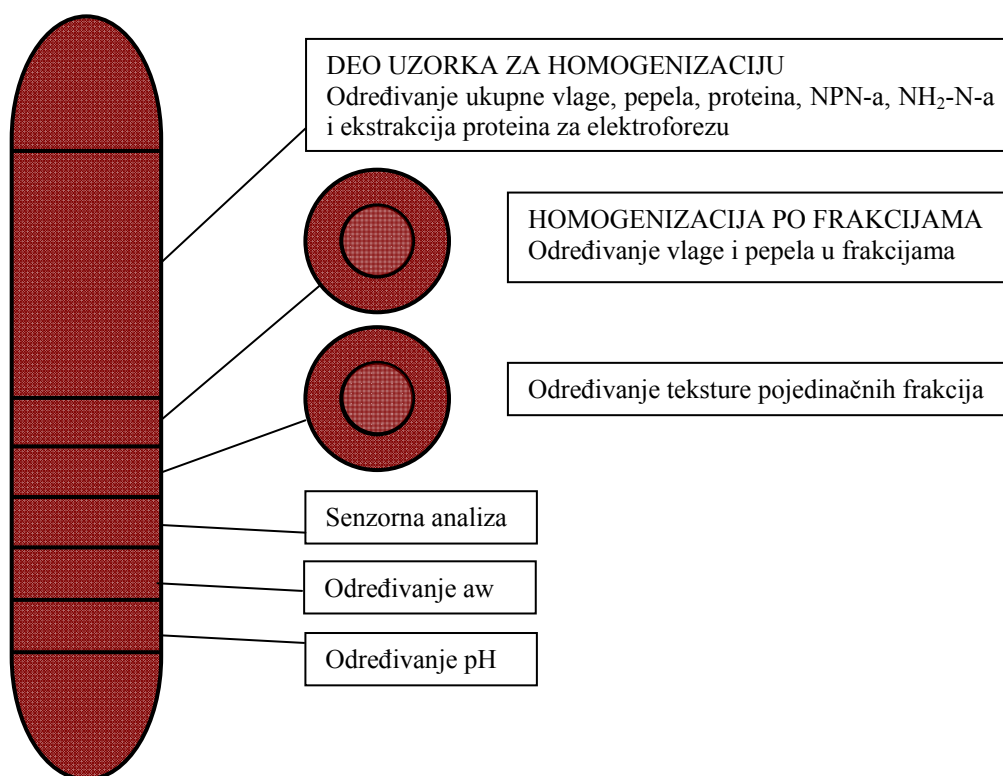


Slika 4.3. Pakovanje *Petrovačke kobasice* u vakuumu i u modifikovanoj atmosferi

U trećoj proizvodnoj sezoni nadev za kobasice je proizveden od ohlađenog mesa (24 časa *post mortem*) u domaćinstvu jednog od zadrugara (D), u februaru mesecu. U polovinu mase izrađenog nadeva je dodato 0,015% komercijalne starter kulture (Quick-starter, Lay, Gewirze OHG, Nemačka) čiji sastav (*Staphylococcus carnosus* 25%, *Staphylococcus xylosum* 25%, *Lactobacillus sakei* 25%, *Pediococcus pentosaceus* 25%) najviše odgovara identifikovanom profilu endogene mikroflore izolovane iz kobasica proizvedenih na

tradicionalan način u prvoj sezoni. Druga polovina nadeva je ostala nepromenjena. Kobasice sa i bez dodatka **komercijalne starter kulture** su podvrgnute procesima dimljenja, sušenja i zrenja u **tradicionalnim (D)** i u **kontrolisanim (industrijskim) uslovima (E)**, prema definisanom modelu.

Prilikom izrade svih devet modela *Petrovačke kobasice* po pet nasumično izabranih kobasica iz svake serije je posebno obeleženo kako bi poslužili za određivanje prosečnog gubitka mase sušenjem (kalo) tokom čitavog perioda proizvodnje.



Slika 4.4. Šematski prikaz načina pripreme uzoraka

Tokom sve tri sezone, uzorci *Petrovačke kobasice*, na kojima je izvršena analiza predviđenih pokazatelja radi definisanja intenziteta i brzine procesa sušenja i zrenja, su uzeti u tačno određenim periodima proizvodnje, počevši od sirovog nadeva (0. dan), te tri slučajno izabrane kobasice nakon 2, 6, 9, 15, 30, 45, 60, 90. i 120. dana. Sve kobasice su podeljene na delove prema priloženoj šemi (Slika 4.4) radi pripreme uzoraka za predviđene analize. Pojedini delovi kobasice su dalje podeljeni na dve koncentrične frakcije, unutrašnju prečnika 25,4 mm i spoljašnju koja predstavlja razliku do punog prečnika kobasice (radijalni uzorci). U homogenizovanim uzorcima celih kobasica i pomenutih frakcija (Bosch, Type UM4EV2B) obavljena su ispitivanja naznačena na šemi, a u nehomogenizovanim radijalnim uzorcima

određena je sila probijanja (čvrstoća). Homogenizovani uzorci namenjeni daljim hemijskim analizama su upakovani u poletilenske vrećice i skladišteni na  $-18^{\circ}\text{C}$  do momenta ispitivanja, a fizička i senzorna analiza pripremljenih uzoraka je obavljena u istom danu.

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije su obavljena u Bačkom Petrovcu u domaćinstvima članova Zemljoradničke zadruge „Kulen“ (A, B, D), gde su pripremljeni uzorci *Petrovačke kobasice*, kao i u kontrolisanim uslovima IM „Kolbis“ iz Novog Sada (1. sezona), „Poniger“ iz Bačkog Petrovca i „Supemix“ iz Kucure (2. sezona), i IM „Topola“ iz Bačke Topole (3. sezona). Ispitivanja predviđenih parametara kvaliteta ovog proizvoda su realizovana u laboratorijama Tehnološkog fakulteta i Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, Univerziteta u Novom Sadu.

Tabela 4.1. Prikaz plana eksperimenata izvedenih u okviru ovog rada

Sezona	Grupa	Varijabilni faktor	Dimljenje, sušenje i zrenje	Kraj sušenja	Način pakovanja
1.	A2	toplo meso (3h <i>p.m.</i> )	tradicionalni (spontani) uslovi	90. dan	V
					M
	B2				V
		M			
	B4	hladno meso (24h <i>p.m.</i> )	kontrolisani (industrijski) uslovi	45. dan	V
					M
2.	C2	ručno mešanje	kontrolisani (zanatski) uslovi	60. dan	V
					M
	C3	mašinsko mešanje			V
					M
3.	D1	bez starter kulture	tradicionalni (spontani) uslovi	90. dan	V
	D2	sa starter kulturom			
	E1	bez starter kulture	kontrolisani (industrijski) uslovi	60. dan	V
	E2	sa starter kulturom			

## 4.2. METODE RADA

### 4.2.1. FIZIČKO-HEMIJSKE ANALIZE

#### 4.2.1.1. GUBITAK MASE SUŠENJEM (KALO)

Gubitak mase kobasica sušenjem (kalo) je određen merenjem mase pet posebno označenih kobasica iz svake proizvodne serije odmah nakon punjenja (dan 0.), a zatim i nakon prethodno definisanih vremenskih perioda (2, 6, 9, 15, 30, 45 – samo B4, 60, 90 i 120 dana) tokom procesa proizvodnje. Razlika u masi, izražena kao procenat početne mase kobasice predstavlja gubitak mase sušenjem (%).

#### 4.2.1.2. SMANJENJE DIJAMETRA

Dijametar kobasica je izmeren na dva mesta tri slučajno izabrane kobasice iz svake proizvodne serije odmah nakon punjenja (dan 0.), a zatim i nakon prethodno definisanih vremenskih perioda tokom procesa proizvodnje. Razlika u prečniku kobasice, izražena kao procenat početne vrednosti ovog pokazatelja predstavlja smanjenje dijametra kobasice (%) tokom sušenja.

#### 4.2.1.3. AKTIVNOSTI VODE (AW)

Aktivnost vode (aw) u kobasicama je određena upotrebom višenamenskog uređaja Testo 650 (Testo, Inc., 40 White Lake Rd, Sparta, NJ, USA) sa specijalnom sondom za merenje aw vrednosti. Postupak određivanja je obuhvatao punjenje grubo usitnjenog uzorka kobasice u mernu posudicu do 2/3 njene visine, postavljanje u merni deo sonde, te sam proces merenja pri konstantnoj sobnoj temperaturi ( $\approx 20^{\circ}\text{C}$ ) do uspostavljanja ravnotežnog stanja u mernom delu sonde tokom 2 časa.

#### 4.2.1.4. VREDNOST pH

Merenje vrednosti pH je izvršeno prema referentnoj SRPS ISO 2917 (2004) metodi, upotrebom prenosnog pH metra (Consort C931, Turnhout, Belgium) opremljenog sa ubodnom ojačanom staklenom kombinovanom elektrodom (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) za direktno određivanje vrednosti pH u mesu i proizvodima od mesa. Pre i tokom očitavanja pH metar je kalibrisan standardnim fosfatnim puferima (pH 7.02 i 4.00 na  $20^{\circ}\text{C}$ ) i podešen na izmerenu temperaturu uzoraka *Petrovačke kobasice*. Rezultat je izražen kao aritmetička sredina tri merenja.

#### 4.2.1.5. SADRŽAJ VLAGE

Sadržaj vlage u kobasicama je određen referentnom metodom SRPS ISO 1442 (1997). Princip određivanja se sastoji u potpunom mešanju dela homogenizovanog uzorka za ispitivanje sa kvarcnim peskom i sušenju do konstantne mase na  $103 \pm 2^\circ\text{C}$ . Za određivanje sadržaja vode u pojedinačnim frakcijama kobasica upotrebljen je TGA701 termogravimetrijski analizator (LECO Corporation, St. Joseph, Michigan, USA), čiji princip rada se zasniva na prethodno pomenutoj referentnoj metodi. Sadržaj vlage u uzorku je izražen u g/100g, odnosno u procentima (%).

#### 4.2.1.6. SADRŽAJ UKUPNOG PEPELA

Sadržaj ukupnog pepela u kobasicama je određen referentnom metodom SRPS ISO 936 (1999). Princip određivanja se sastoji u merenju hladnog ostatka, nakon sušenja, ugljenisanja i žarenja dela uzorka za ispitivanje na  $550 \pm 25^\circ\text{C}$ , do konstantne mase. Za određivanje sadržaja pepela u pojedinačnim frakcijama kobasica upotrebljen je TGA701 termogravimetrijski analizator (LECO Corporation, St. Joseph, Michigan, USA), čiji princip rada se zasniva na prethodno pomenutoj referentnoj metodi. Istovremena analiza sadržaja vlage i pepela (19 uzoraka) traje oko 5h, tokom kojih uređaj automatski određuje pomenute parametre uz održavanje odgovarajuće temperature do postizanja konstantne mase. Sadržaj ukupnog pepela u uzorku je izražen u g/100g, odnosno u procentima (%).

#### 4.2.1.7. SADRŽAJ PROTEINA

Sadržaj proteina u kobasici je utvrđen na osnovu sadržaja ukupnog azota (TN), određenog referentnom SRP ISO 937 (1991) metodom po *Kjeldahl-u*, množenjem sa faktorom 6,25. Princip određivanja se sastoji u digestiji uzorka koncentrovanom sumpornom kiselinom, uz korišćenje bakar(II)-sulfata kao katalizatora kako bi se ukupni azot preveo u amonijum jone ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ). Zatim sledi alkalizacija sa natrijum-hidroksidom, destilacija oslobođenog amonijaka u višak rastvora borne kiseline i titracija hlorovodoničnom kiselinom da bi se odredio amonijak vezan za bornu kiselinu. Sadržaj proteina u uzorku je izražen u g/100g, odnosno u procentima (%).

#### 4.2.1.8. SADRŽAJ NEPROTEINSKOG AZOTA (NPN)

Sadržaj neproteinskog azota (NPN) je utvrđen određivanjem sadržaja ukupnog azota u filtratu, referentnom SRP ISO 937 (1991) metodom po *Kjeldahl-u*, nakon kvantitativnog



taloženja proteina 10% rastvora trihlor-sirćetne kiseline (TCA). Naime, 10 g uzorka kobasice je homogenizovano sa 20 ml 10% rastvora TCA, uz korišćenje T18 Basic Ultra Turrax-a (IKA-Werke GmbH & Co. KG), tokom 60 s i pri brzini od 13,500 obrataja/min. Nakon homogenizacije uzorci su ostavljeni 2 h na 4°C radi taloženja, a zatim je izvršeno filtriranje i određivanje sadržaja azota u 10 ml filtrata pomenutom metodom po *Kjeldahl-u*. Sadržaj NPN u uzorku je izražen u g/100g suve materije uzorka. Suva materija je izračunata na osnovu prethodno opisane metode za određivanje sadržaja vlage (SRPS ISO 1442:1997).

#### 4.2.1.9. INDEKS PROTEOLIZE (IP)

Indeks proteolize je izračunat kao procenat neproteinskog azota (NPN) u ukupnom sadržaju azota (TN) u kobasici, prema sledećoj formuli:

$$\text{IP (\%)} = \text{NPN} / \text{TN} \times 100$$

#### 4.2.1.10. SADRŽAJ $\alpha$ -AMINOKISELINSKOG AZOTA (NH<sub>2</sub>-N)

$\alpha$ -aminokiselinski azot (NH<sub>2</sub>-N) je određen titracijom sa 0,1 M rastvorom NaOH u prisustvu formaldehida do vrednosti pH od 9,18, prema metodi formolne titracije po Sørensen-u, modifikovanoj po Petrovu (1965) (Džamić, 1989). Ukratko,  $\alpha$ -aminokiselinski azot iz 10g homogenizovanog uzorka kobasice je rastvoren u 100 ml destilovane vode, intenzivnim mućkanjem u toku 1h. Po završetku mućkanja rastvor je filtriran, a dobijeni filtrat je zatim neutralisan 0,1 M rastvorom NaOH. Potom je u rastvor dodato 10 ml 40% (v/v) rastvora formaldehida, a zatim je sve zajedno titrisano do vrednosti pH 9,18, pomenutim rastvorom 0,1 M NaOH. Sadržaj NH<sub>2</sub>-N u uzorku je izražen u g/100g suve materije uzorka.

#### 4.2.1.11. TEKSTURA (ČVRSTOĆA)

Instrumentalno merenje teksture pojedinačnih frakcija kobasice je izvršeno upotrebom univerzalnog uređaja (Instron International LTD, High Wycombe, UK), model 4301. Čvrstoća je određena kao sila potrebna za probijanje kroz koncentrične frakcije kobasice debljine 1 cm, a izražena je u njutnima (N). Merenja su vršena upotrebom nastavka za probijanje u vidu petokrake igle, pri brzini od 100 mm/min. Prikazane vrednosti ovog pokazatelja su izražene kao srednja vrednost najmanje šest merenja na jednom uzorku. Ukupna čvrstoća kobasice je izražena kao srednja vrednost čvrstoća pojedinačnih frakcija (Popov-Raljić, 1999).

## 4.2.2. ELEKTROFORETSKO RAZDVAJANJE PROTEINA

### 4.2.2.1. EKSTRAKCIJA SARKOPLAZMATSKIH I MIOFIBRILARNIH PROTEINA

Proteinski ekstrakti sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina su pripremljeni prema metodi Toldrá i sar. (1993). Ukratko, 4 g usitnjenog uzorka kobasice je homogenizovano sa 40 ml 0,03 M kalijum fosfatnog pufera ( $K_2HPO_4$ ), pH 7,40, koristeći Ultra Turrax pri brzini od 13 500 obrtaja/min. Homogenat je zatim centrifugiran 20 min. pri 10 000 g, na +4 °C. Nakon centrifugiranja, dobijeni supernatant koji sadrži sarkoplazmatske proteine je propušten kroz filter papir (crna traka) i tako pripremljen za dalju analizu. Miofibrilarni proteini su ekstrahovani iz preostalog taloga homogenizovanjem (Ultra Turrax) sa 25 ml rastvora koji sadrži 8 M ureu i 1% (v/v)  $\beta$ -merkaptioetanol-a, tokom 2 min. Tako dobijeni homogenat je centrifugiran pod istim uslovima kao i prethodni, a supernatant sadrži miofibrilarne proteine. Koncentracija sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina u ekstraktima je određena spektrofotometrijskom metodom po Lowry-u (Lowry i sar., 1951), uz korišćenje govedeg albumina kao standardnog proteina, a zatim je neposredno pre nanošenja ekstrakata na elektroforetski čip, dejonizovanom vodom podešena njihova koncentracija do 4 mg/ml i 9 mg/ml, redom.

### 4.2.2.2. RAZDVAJANJE EKSTRAHOVANIH PROTEINA NA ČIPU (Lab-on-a-Chip metoda)

Elektroforetsko razdvajanje ekstrahovanih proteina na čipu je izvršeno prema proceduri opisanoj u radu Torbica i sar. (2010), korišćenjem uređaja Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) u kombinaciji sa 2100 Expert Software računarskim programom i Protein 230 Kit kompletom čipova, reagenasa i pomoćne opreme, koji služi za razdvajanje proteina čije molekulske mase se kreću u rasponu od 14 do 230 kDa.

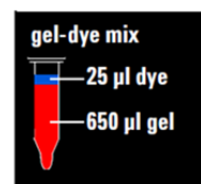


Slika 4.5. Agilent 2100 Bioanalyzer

Neposredno pre početka rada na uređaju prema Agilent Protein 230 Kit uputstvu (eksperiment protokol) pripremljeni su svi potrebni reagensi:

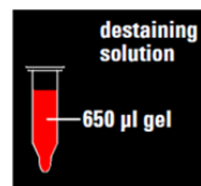
1. Smeša gela i boje (gel-dye mix),

Priprema se pipetiranjem 25  $\mu\text{l}$  koncentrata boje (dye) u kivetu (vialu) koja sadrži 650  $\mu\text{l}$  gela. Zatim se sadržaj dobro izmeša na vortex mikseru (10 s, pri najvećoj brzini), centrifugira 15 s na mikrocentrifugi (spin down) i potom se celokupna smeša prenese na vrh posude sa spin filterom i centrifugira (filtrira) 15 minuta pri sobnoj temperaturi na 2500  $\text{g} \pm 20\%$ .



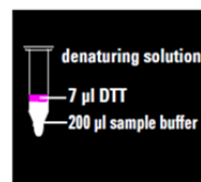
2. Rastvor za odbojavanje (destaining solution),

Priprema se pipetiranjem 650  $\mu\text{l}$  gela na vrh posude sa spin filterom. Zatim se sadržaj centrifugira 15 minuta pri sobnoj temperaturi na 2500  $\text{g} \pm 20\%$ .

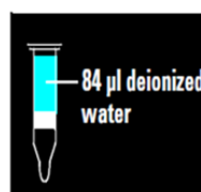
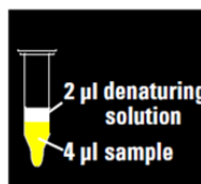


3. Rastvor za denaturaciju (denaturing solution).

Priprema se tako što se u 200  $\mu\text{l}$  pufera (sample buffer) u originalnoj viali doda redukujući agens, odnosno 7  $\mu\text{l}$  1 M Ditiotreitola (DTT) ili 7  $\mu\text{l}$   $\beta$ -merkaptetanola, i meša se na vortex mikseru 5 s.



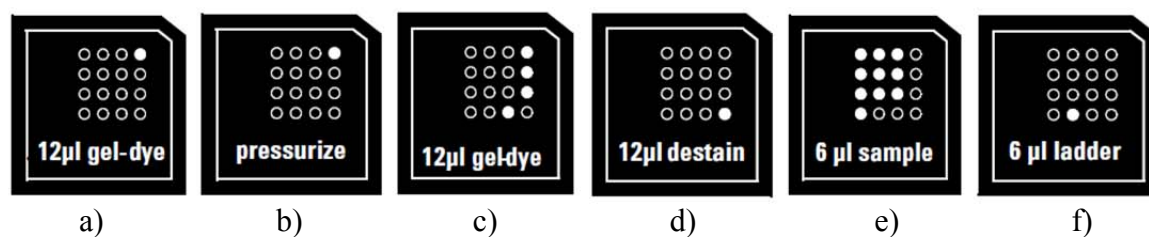
Zatim su ekstrakti sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina svakog od analiziranih uzoraka pripremljeni za nanošenje na čip tako što je u 4  $\mu\text{l}$  rastvora proteina, prethodno podešene koncentracije, dodato 2  $\mu\text{l}$  rastvora za denaturaciju koji sadrži litium dodecilsulfat, redukujući agens i dva interna standarda (donji marker na 4,5 kDa i gornji marker na 240 kDa). Potom je sve dobro izmešano i centrifugirano 15 s (spin down). U isto vreme 6  $\mu\text{l}$  standarda proteina (ladder) je pipetirano u posebnu mikrokivetu. Potom su svi uzorci i standard proteina toplotno denaturisani pri temperaturi 95-100  $^{\circ}\text{C}$ , tokom 5 min. (ključala voda), zatim ostavljeni da se prohlade, razređeni dodatkom 84  $\mu\text{l}$  dejonizovane vode, te je sve dobro izmešano na vortex mikseru.



Slika 4.6. Izgled Agilent 230 proteinskog čipa

Priprema čipa za analizu obuhvata:

- a) Pipetiranje 12  $\mu$ l smeše gela i boje (gel-dye mixture) u jedan od bunarčića (well) sa oznakom G,
- b) Primenu pritiska dobijenog pomoću specijalnog šprica tokom 60 s, čime se omogućava punjenje kanala čipa smešom gela i boje,
- c) Pipetiranje po 12  $\mu$ l smeše gela i boje u još tri sistemska bunarčića sa oznakom G, koja služe kao rezervoar tokom razdvajanja proteina,
- d) Pipetiranje 12  $\mu$ l rastvora za odbojavanje (destaining solution) u bunarčić oznake DS,
- e) Pipetiranje po 6  $\mu$ l svakog od pripremljenih proteinskih uzoraka u bunarčiće sa oznakama od 1 do 10,
- f) Pipetiranje 6  $\mu$ l pripremljenog standarda proteina u bunarčić sa odgovarajućom oznakom (ladder – merdevine).



Kada su svi uzorci proteina i standardni protein (ladder) naneti, čip se stavlja u uređaj gde elektrode dolaze u kontakt sa tečnošću u bunarčićima, te se formira električno kolo koje omogućava kretanje uzoraka do kanala za razdvajanje. Svaki uzorak proteina se posebno razdvaja i detektuje pomoću laser-indukovanog fluorescentnog detektora (670-700 nm) tokom 45 s. Kompletna analiza 10 uzoraka ekstrakata proteina, uključujući dimenzionisanje i kvantifikaciju, traje 25 minuta.



Slika 4.7. Agilent 2100 Bioanalyzer sa postavljenim 230 proteinskim čipom

### 4.2.3. REGISTROVANJE TERMO-HIGROMETRIJSKIH USLOVA U PROIZVODNIM PROSTORIJAMA

Tokom procesa sušenja i zrenja kobasica izrađenih u sve tri proizvodne sezone kontinuirano su registrovani parametri vazduha (temperatura i relativna vlažnost) kako u tradicionalnoj prostoriji (spontani uslovi) tako i u komori za dimljenje, sušenje i zrenje (kontrolisani uslovi). U prve dve sezone, u tradicionalnim prostorijama i komori zanatskog registrovanog objekta, ovi parametri su redovno mereni pomoću jednostavnih uređaja koji pokazuju trenutne vrednosti temperature i vlage, a vrednosti su manuelno unošene u prethodno pripremljene tabele, dok su u industrijskoj komori osobine vazduha za sušenje registrovane preko instaliranog sistema za praćenje i regulaciju procesnih parametara. U trećoj sezoni za kontinuirano registrovanje termo-higrometrijskih uslova korišćeni su Mini Data Logger-i Testo 174H (Testo, Inc., Sparta, NJ, USA) koji raspolažu internom memorijom za skladištenje velikog broja podataka izmerenih tokom posmatranog perioda. Dobijeni podaci su obrađeni upotrebom ComSoft Basic 5 računarskog programa.

### 4.2.4. SENZORNA ANALIZA

Senzornu analizu tradicionalne suve fermentisane *Petrovačke kobasice* je obavila komisija od min. 6 treniranih ocenjivača, različitih godina. Za ocenjivanje je korišćen bod sistem analitičkih deskriptivnih testova sa skalom od 0 do 5 (Radovanović i Popov-Raljić, 2001), gde svaka ocena predstavlja određeni nivo kvaliteta. Tako, najniža ocena 0 predstavlja proizvode sa vidljivim mehaničkim i/ili mikrobiološkim oštećenjima, ocena 1 predstavlja izmenjena i netipična svojstva, neprihvatljiv proizvod, ocena 2 predstavlja izražene do veoma izražene mane i nedostatke kvaliteta proizvoda, ocena 3 predstavlja određene mane i nedostatke kvaliteta, ocena 4 predstavlja uočljiva odstupanja ili neznatne nedostatke u kvalitetu, dok ocena 5 predstavlja izuzetna, tipična senzorna svojstva, optimalan nivo kvaliteta.

Senzorna analiza *Petrovačke kobasice* je obuhvatala ocenjivanje: spoljnjeg izgleda i stanja omotača, izgleda i sastava preseka, boje i održivosti boje, mirisa i ukusa, teksture i sočnosti. Svako navedeno svojstvo je ocenjeno ocenom od 1 do 5, kako je prethodno opisano, a ponderisana ocena ukupnog senzornog kvaliteta kobasice je dobijena množenjem ocene za svaku osobinu odgovarajućim koeficijentom važnosti (KV), koji za pomenuta senzorna

svojstva iznosi: 2, 5, 3, 7 i 3, redom. U radu je iskazana ponderisana senzorna ocean, kao i procenat ukupnog senzornog kvaliteta kobasice (%).

### 4.3. STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA

Rezultati u ovom radu su prikazani kao srednje vrednosti tri nezavisna ponavljanja  $\pm$  standardna devijacija (SD), ukoliko to nije drugačije naznačeno. Podaci su obrađeni primenom softverskog paketa Microsoft Office Excel 2007 i računarskog programa Statistica 9.1 za Windows, Stat Soft, Tulsa, Oklahoma, USA. Urađena je analiza varianse sa jednom nezavisno promenljivom (One way ANOVA) i Dankanov Post-hoc test, a značajnost razlika srednjih vrednosti  $\pm$  SD je izražena sa 95% verovatnoće ( $P < 0,05$ ).

#### 4.3.1. MATEMATIČKO MODELOVANJE KINETIKE SUŠENJA

##### *PETROVAČKE KOBASICE*

Prosečan sadržaj vode u nekom materijalu tokom procesa sušenja može se izračunati na osnovu sledećeg izraza:

$$M_R = (M - M_e)/(M_0 - M_e) \quad (1)$$

Kako je vrednost ravnotežnog sadržaja vlage materijala u dinamičkoj ravnoteži  $M_e$  (kg vode/kg suve materije) relativno mala u poređenju sa  $M$  i  $M_0$ , bezdimenzioni odnos sadržaja vlage  $M_R$  se pojednostavljeno može izračunati (Doymaz i Pala, 2002; Toğrul i Pehlivan, 2002):

$$M_R = M/M_0 \quad (2)$$

gde  $M$  predstavlja sadržaj vlage u datom vremenu (kg vode/kg suve materije), a  $M_0$  početni sadržaj vlage proizvoda (kg vode/kg suve materije). U cilju određivanja sadržaja vlage kao funkcije vremena sušenja, nelinearni matematički modeli, prikazani u tabeli 4.2. su iskorišćeni od strane velikog broja autora (Gögüs i Maskan, 2001; Doymaz i Pala, 2002; Toğrul i Pehlivan, 2002; Akpinar i sar., 2003; Doymaz i sar., 2004; Jain i Pathare, 2004; 2007; Gupta, 2011) za opisivanje sušenja u tankom sloju različitog voća, povrća, tropa masline, algi i ribe. Većina ovih modela su eksponencijalno opadajuće funkcije koje na odgovarajući način opisuju pad sadržaja vlage u nekom materijalu sa vremenom. Samo Wang i Sing-ov model predstavlja polinom drugog reda, ali prema zaključcima pomenutih autora ovaj model takođe obezbeđuje dobro predviđanje eksperimentalnih podataka. Na osnovu prethodno navedenih

saznanja isti modeli su testirani tokom ispitivanja kinetike sušenja *Petrovačke kobasice* kako u tradicionalnim (spontanim) tako i u kontrolisanim uslovima proizvodnje.

Tabela 4.2. Matematički modeli testirani za opisivanje kinetike sušenja *Petrovačke kobasice*

Broj	Naziv modela	Model
1	Newton	$M_R = \exp(-kt)$
2	Page	$M_R = \exp(-kt^n)$
3	Henderson i Pabis	$M_R = a \exp(-kt)$
4	Logaritamski	$M_R = a \exp(-kt) + b$
5	Wang i Singh	$M_R = 1 + at + bt^2$
6	Aproksimacija difuzije	$M_R = a \exp(-kt) + (1 - a) \exp(-kbt)$
7	Dvoparametarski eksponencijalni	$M_R = a \exp(-kt) + (1 - a) \exp(-kat)$

$M_R$  – odnos sadržaja vlage u datom vremenu i na početku sušenja;  $t$  – vreme sušenja (dan);  $k, n, a, b$  - konstante

Prihvatljivost pojedinačnih modela za opisivanje procesa sušenja je određena preko koeficijenta determinacije ( $r^2$ ), čija vrednost treba da je približno 1, korena srednje kvadratne greške ( $E_{RMS}$ ) i hi-kvadrata ( $\chi^2$ ). Što je veća vrednost  $r^2$  i manje vrednosti  $E_{RMS}$  i  $\chi^2$ , model je bolji. Pomenuti parametri se računaju na sledeći način (Doymaz i sar., 2004, Lee i Kim, 2009):

$$E_{RMS} = \left[ \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (M_{R,exp,i} - M_{R,pre,i})^2 \right]^{1/2} \quad (3)$$

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (M_{R,exp,i} - M_{R,pre,i})^2}{N - z} \quad (4)$$

gde su:  $M_{R,exp,i}$  i  $M_{R,pre,i}$  eksperimentalni i predviđeni bezdimenzioni odnosi sadržaja vlage, respektivno;  $N$  je broj pojedinačnih eksperimentalnih merenja, a  $z$  je broj konstanti.

Kao što je već napomenuto, statistička analiza i ovih rezultata je izvršena primenom Statistica 9.1 računarskog programa (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, USA)

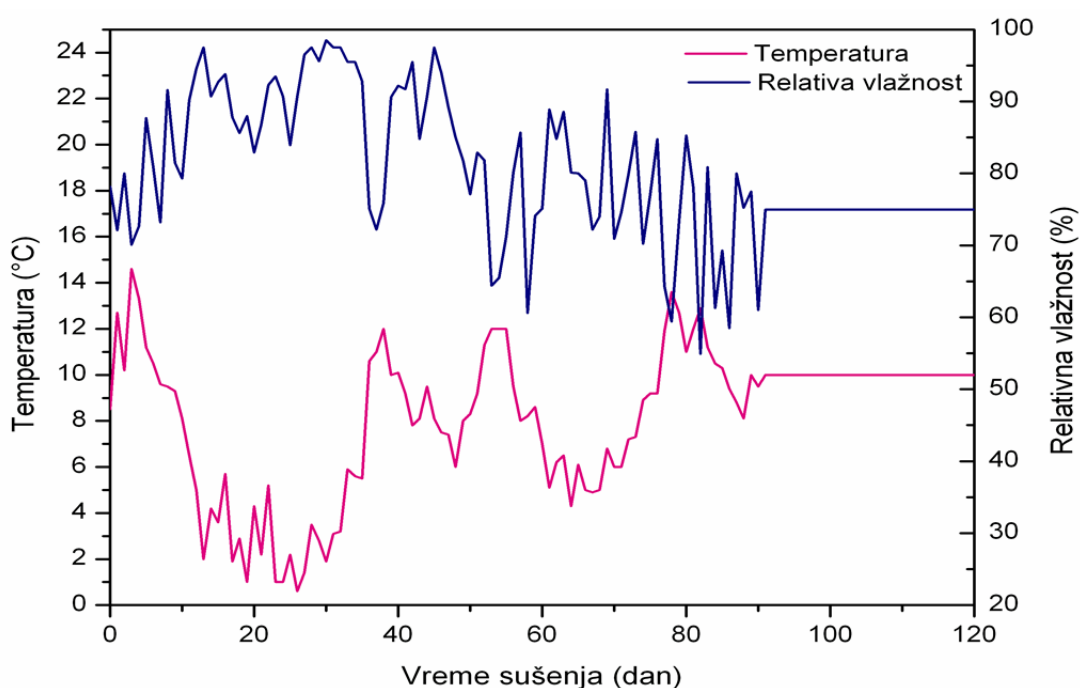
## 5. PRIKAZ REZULTATA

Rezultati dobijeni ispitivanjem brzine i intenziteta procesa sušenja i zrenja *Petrovačke kobasice* (*Petrovská klobása*) kako u tradicionalnim, tako i u kontrolisanim uslovima, radi razvoja procesa sušenja i zrenja u kontrolisanim uslovima, tokom tri proizvodne sezone, prikazani su na 18 grafika, 30 tabela i 2 slike.

### 5.1. PARAMETRI VAZDUHA TOKOM SUŠENJA I ZRENJA U TRADICIONALNIM I KONTROLISANIM USLOVIMA IZRAĐENIH GRUPA *PETROVAČKE KOBASICE*

#### 5.1.1. PRVA PROIZVODNA SEZONA

Na graficima 5.1. i 5.2. su prikazani termo-higrometrijski uslovi, odnosno promene temperature i relativne vlažnosti vazduha u prostorijama za dimljenje, sušenje i zrenje tokom 90 dana proizvodnje *Petrovačke kobasice* u tradicionalnim uslovima domaćinstava A i B, i 30 dana čuvanja radi zrenja pri konstantnim uslovima industrijske komore.



Grafik 5.1. Termohigrometrijski uslovi u prostorijama za dimljenje i sušenje tokom 90 dana proizvodnje *Petrovačke kobasice* u tradicionalnim uslovima domaćinstva A i 30 dana čuvanja u kontrolisanim uslovima radi zrenja (grupa A2)

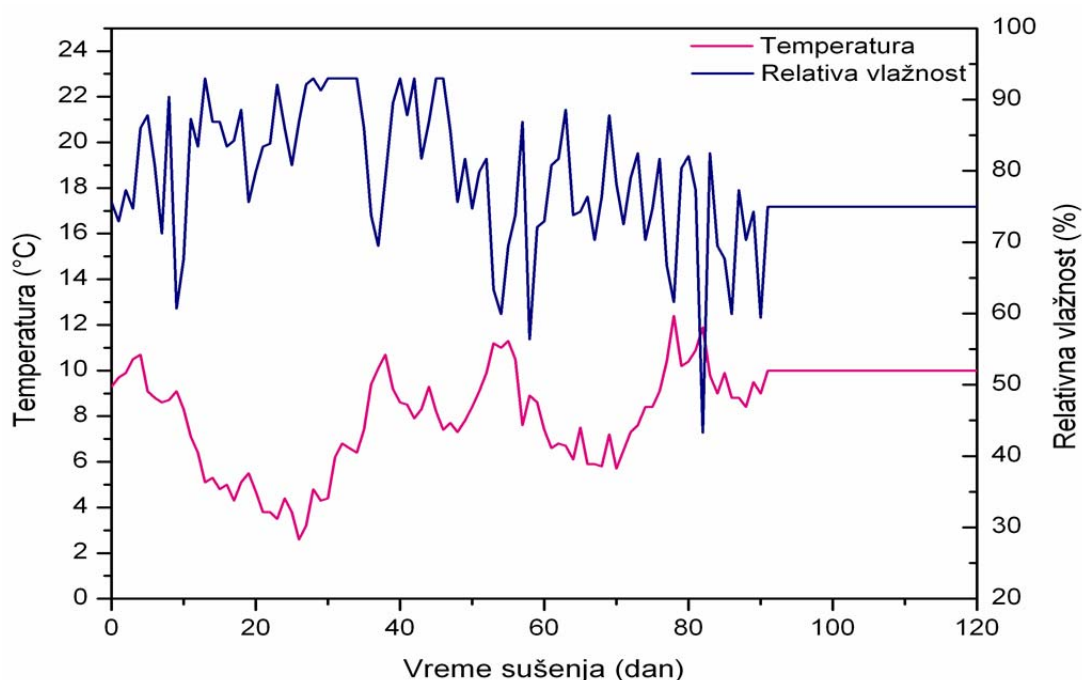


Kako se na grafiku 5.1. može uočiti, temperatura i relativna vlažnost vazduha u tradicionalnim prostorijama domaćinstva A su značajno varirali tokom procesa dimljenja i sušenja kobasica, kao posledica visoke zavisnosti ovih parametara od spoljašnjih klimatskih uslova. Minimalna temperatura je zabeležena 26. dana proizvodnje i iznosila je  $0,6^{\circ}\text{C}$ , dok je maksimalna temperatura, registrovana 3. dana proizvodnje (proces dimljenja), iznosila  $14,6^{\circ}\text{C}$ . Tokom čitavog perioda dimljenja i sušenja u tradicionalnim uslovima prosečna temperatura vazduha je iznosila  $7,5^{\circ}\text{C}$ . Takođe, na grafiku je uočljivo da je temperatura vazduha tokom prvih 10 dana (period dimljenja) bila nešto viša od prosečne ( $10,7^{\circ}\text{C}$ ). Ova pojava je uslovljena činjenicom da se dim tokom tradicionalnog postupka dimljenja dobija sagorevanjem drveta na otvorenom ložištu, te je došlo do izvesnog zagrevanja vazduha u prostoriji. Kobasice su nakon dimljenja prenete u drugu prostoriju radi sušenja, gde je tokom prvih 25 dana registrovana veoma niska temperatura vazduha, koja je prosečno iznosila  $3,3^{\circ}\text{C}$ . Temperatura je zatim postepeno rasla do kraja procesa sušenja (90. dan), uz manji pad registrovan između 60. i 70. dana proizvodnje, opet kao posledica pada spoljašnje temperature vazduha. Po završetku procesa sušenja kobasice su prenete u kontrolisane i konstantne ambijentalne uslove ( $10^{\circ}\text{C}$ , 74% RV), radi zrenja do 120. dana.

Na grafiku 5.1. se može uočiti da je RV vazduha takođe značajno varirala tokom dimljenja i sušenja kobasica u tradicionalnim uslovima domaćinstva A. Prosečna vrednost ovog parametra vazduha je za čitav period dimljenja i sušenja iznosila 82,1%, a maksimalna vrednost od 98,5% i minimalna vrednost od 54,9% su registrovane 30. i 82. dana, redom. Tokom procesa dimljenja (10 dana) RV vazduha je varirala u intervalu od 70,1% do 91,6%, a prosečno je iznosila 78,8%. U narednih 25 dana, dok je u prostoriji za sušenje vladala niska temperatura, RV vazduha je bila veoma visoka i prosečno je iznosila 92,3%. Nakon tog perioda RV je počela postepeno da opada do kraja procesa sušenja (90. dan), kada su kobasice prenete u prostoriju sa konstantnim uslovima ( $10^{\circ}\text{C}$ , 74% RV) radi zrenja do 120. dana.

Kako se na grafiku 5.2. može uočiti, promene temperature i relativne vlažnosti vazduha tokom proizvodnje kobasica u domaćinstvu B su tekle prema istom obrascu kao i u domaćinstvu A. Ova pojava je sasvim razumljiva ako se uzme u obzir da su u oba slučaja u pitanju tradicionalne prostorije u kojima su termo-higrometrijski uslovi visoko zavisni od spoljašnjih klimatskih parametara, te da je u pitanju ista proizvodna sezona, mesec i dan izrade. Minimalna temperatura je takođe zabeležena 26. dana proizvodnje i iznosila je  $2,6^{\circ}\text{C}$ , dok je maksimalna temperatura, registrovana pred kraj trećeg meseca proizvodnje (78. dan), iznosila  $12,4^{\circ}\text{C}$ . Tokom čitavog perioda dimljenja i sušenja prosečna temperatura vazduha je

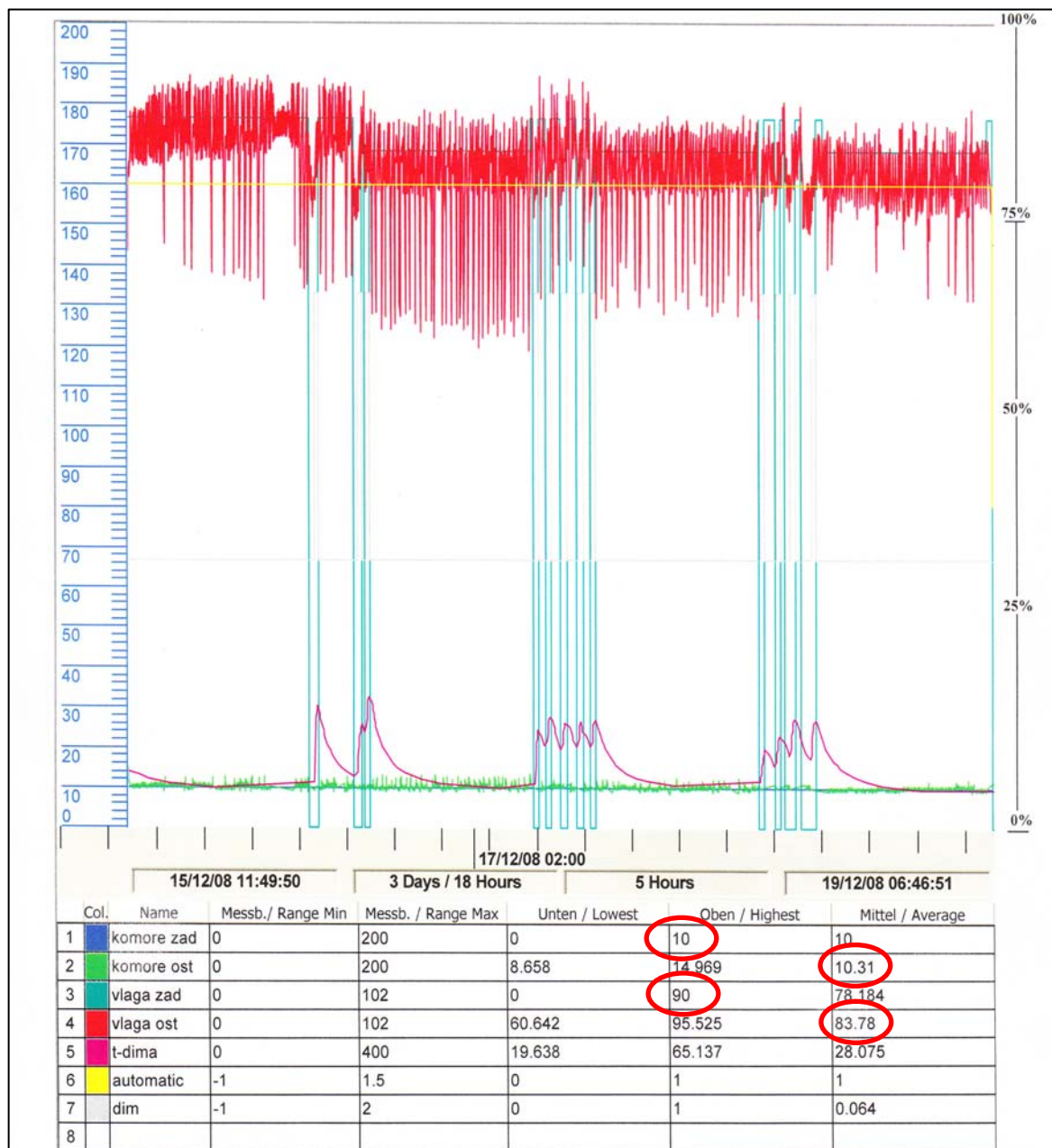
iznosila  $7,7^{\circ}\text{C}$ . Takođe, na grafiku je uočljivo da je temperatura vazduha tokom prvih 10 dana (period dimljenja) bila nešto niža od one registrovane u domaćinstvu A, a iznosila je prosečno  $9,3^{\circ}\text{C}$ , ukazujući na činjenicu da je u prvom domaćinstvu obavljen intenzivniji proces dimljenja. Nakon postupka dimljenja kobasice su prenete u drugu prostoriju radi sušenja, gde je tokom prvih 25 dana registrovana temperatura približno iznosila  $5,0^{\circ}\text{C}$ , a zatim je postepeno rasla do kraja procesa sušenja (90. dan), uz manji pad registrovan između 60. i 70. dana proizvodnje, opet kao posledica pada spoljašnje temperature vazduha. Po završetku procesa sušenja kobasice su prenete u kontrolisane i konstantne uslove ( $10^{\circ}\text{C}$ , 74% RV), radi zrenja do 120. dana.



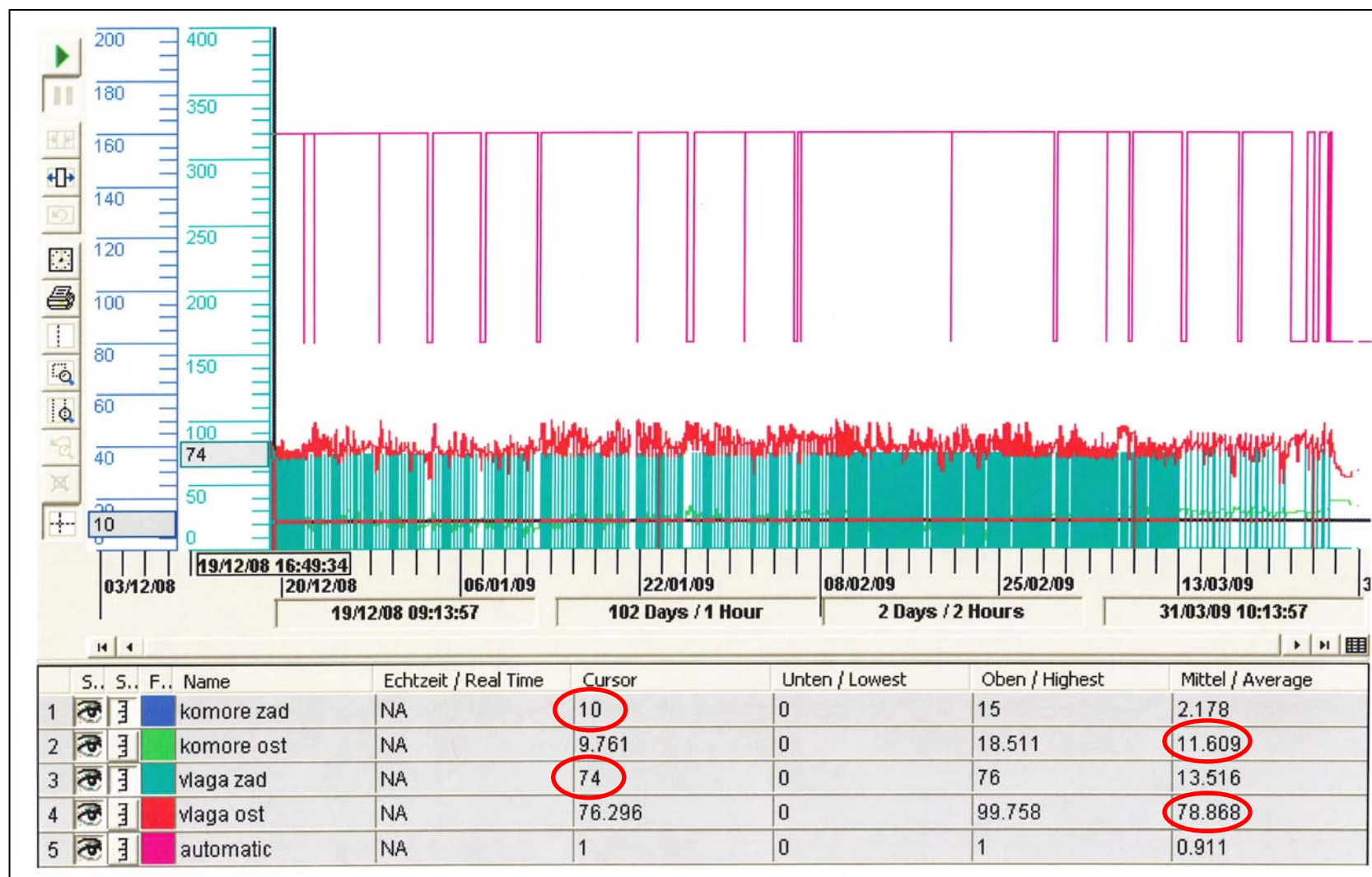
Grafik 5.2. Termo-higrometrijski uslovi u prostorijama za dimljenje i sušenje tokom 90 dana proizvodnje *Petrovačke kobasice* u tradicionalnim uslovima domaćinstva B i 30 dana čuvanja u kontrolisanim uslovima radi zrenja (grupa B2)

Na grafiku 5.2. se može videti da je RV vazduha u domaćinstvu B takođe značajno varirala tokom čitavog perioda dimljenja i sušenja kobasica. Prosečna vrednost ovog parametra vazduha je iznosila 79,5%. Maksimalna vrednost RV vazduha od 93,0% je registrovana u više navrata tokom prva dva meseca proizvodnje, dok je minimalna vrednost od 43,3% registrovana 82. dana. Tokom procesa dimljenja (10 dana) RV vazduha je varirala u intervalu od 60,7% do 90,4%, a prosečno je iznosila 76,8%. U narednih 25 dana, dok je u prostoriji za sušenje vladala relativno niska temperatura ( $\approx 5,0^{\circ}\text{C}$ ), RV vazduha je bila veoma visoka i prosečno je iznosila 87,6%. Nakon tog perioda RV je postepeno opadala do kraja

procesa sušenja (90. dan), kada su kobasice prenete u prostoriju sa konstantnim termo-higrometrijskim uslovima (10°C, 74% RV), radi zrenja do 120. dana.



Grafik 5.3. Termo-higrometrijski uslovi u industrijskoj komori tokom procesa dimljenja Petrovačke kobasice (grupa B4)



Grafik 5.4. Termo-higrometrijski uslovi u industrijskoj komori tokom procesa sušenja i zrenja *Petrovačke kobasice* (grupa B4)

Na grafiku 5.3. su prikazani termo-higrometrijski uslovi tokom dimljenja *Petrovačke kobasice* u kontrolisanim uslovima industrijske komore. Kao što se na prikazanom grafiku može videti, tokom procesa dimljenja, koji je ukupno trajao tri dana, dim je apliciran 12 puta u trajanju od 30 minuta (roze linija). U istom periodu zadata temperatura vazduha u komori je iznosila 10°C, a ostvarena prosečna vrednost ovog parametra (zeleno linija) je neznatno odstupala od zadate (10,3°C). Nasuprot tome, veće odstupanje se uočava kada se uporedi zadata vrednost RV vazduha u komori tokom dimljenja (90%) sa ostvarenom prosečnom vrednošću ovog parametra (83,8%; crvena linija).

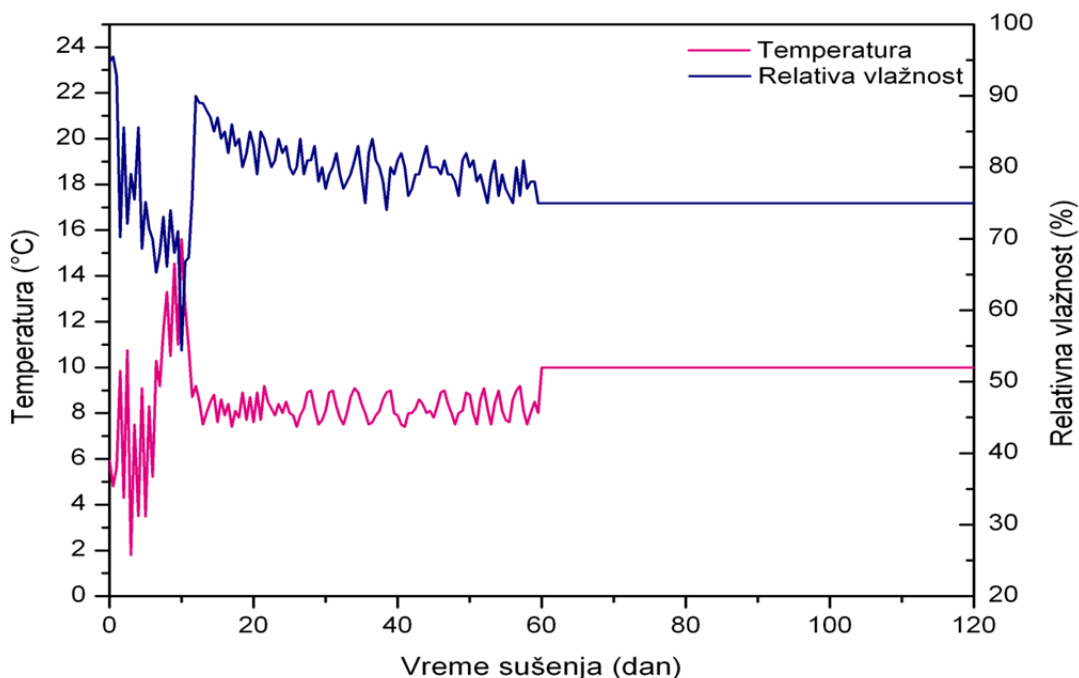
Na grafiku 5.4. su prikazani termo-higrometrijski uslovi tokom sušenja i zrenja *Petrovačke kobasice* u kontrolisanim uslovima industrijske komore. Na prikazanom grafiku se može videti da je zadata temperatura vazduha u komori iznosila 10°C, a ostvarena prosečna vrednost 11,6°C (svetlo zelena linija). U istom periodu, zadata RV vazduha u komori je iznosila 74%, a ostvarena prosečna vrednost ovog parametra (crvena linija) je bila za oko 5% veća (78,9%).

### 5.1.2. DRUGA PROIZVODNA SEZONA

Na grafiku 5.5. su prikazani termo-higrometrijski uslovi, odnosno promene temperature i relativne vlažnosti vazduha u proizvodnim prostorijama tokom procesa dimljenja i sušenja u kontrolisanim (zanatskim) uslovima (60. dan) i u industrijskim uslovima do kraja perioda zrenja (120. dan).

Iz rezultata prikazanih na grafiku 5.5. može se uočiti da je minimalna temperatura tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja kobasica C2 i C3 grupe u kontrolisanim uslovima zanatskog objekta za preradu mesa, zabeležena 3. dana proizvodnje, iznosila 1,8°C, dok je maksimalna temperatura, registrovana 10. dana proizvodnje (proces dimljenja), iznosila 15,6°C. Tokom perioda dimljenja i sušenja u trajanju od 60 dana prosečna temperatura vazduha je iznosila 8,3°C. Takođe, na grafiku se može uočiti da je temperatura vazduha tokom drugog dela perioda dimljenja, od 5. do 10. dana, bila značajno viša od prosečne, kada je i dostignuta maksimalna vrednost ovog parametra za čitav period proizvodnje. Ova pojava je uslovljena činjenicom da je tokom tih nekoliko dana spoljašnja temperatura vazduha bila viša nego što je uobičajeno za to doba godine, te da je postupak dimljenja obavljen na tradicionalan način, sagorevanjem drveta na otvorenom ložištu. Kobasice su nakon dimljenja prenete u drugu prostoriju radi sušenja, gde je ostvarena temperatura neznatno varirala oko zadate vrednosti od 8,0°C. Po završetku procesa sušenja kobasice su prenete u industrijsku

komoru sa konstantnim termo-higrometrijskim uslovima (10°C, 75% RV) gde su čuvane do 120. dana radi zrenja.

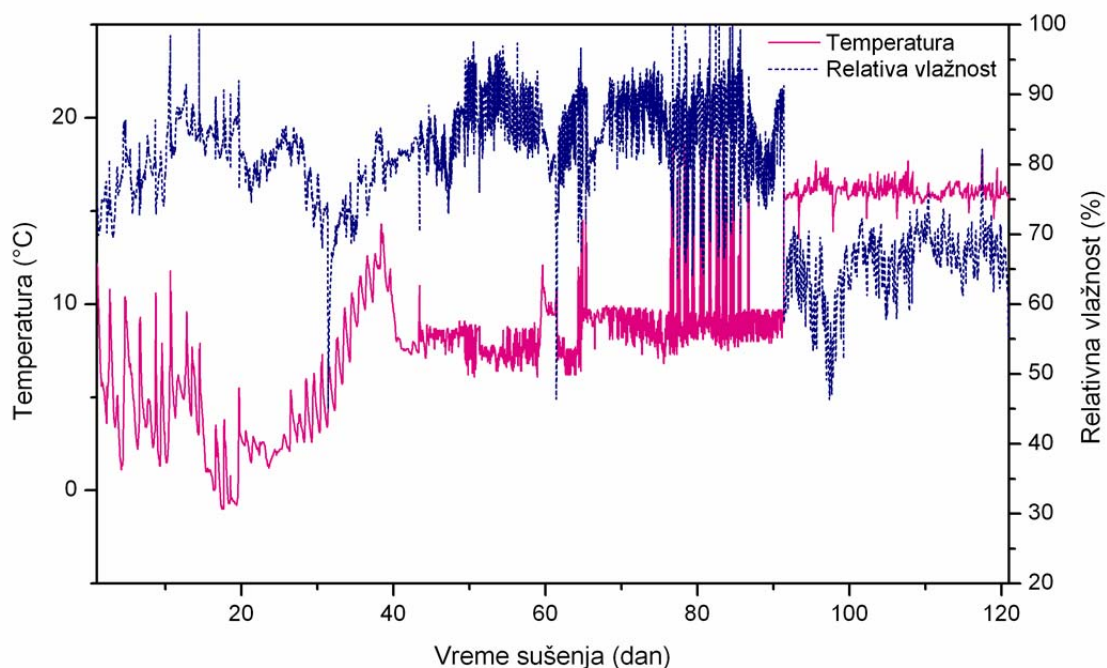


Grafik 5.5. Termo-higrometrijski uslovi u prostorijama za dimljenje, sušenje i zrenje tokom proizvodnje *Petrovačke kobasice* u kontrolisanim uslovima zanatskog i industrijskog objekta za preradu mesa (grupe C2 i C3)

Obradom rezultata dobijenih kontinuiranim registrovanjem relativne vlažnosti vazduha tokom procesa proizvodnje kobasica grupe C2 i C3 utvrđeno je da je prosečna vrednost ovog parametra za period dimljenja i sušenja iznosila 79,3%. Na grafiku 5.5. se dalje može uočiti da su ekstremne vrednosti RV vazduha od 95,5% i 54,4% registrovane na samom početku procesa proizvodnje, odnosno 10. dana, tokom procesa dimljenja. U narednih 50 dana kobasice su bile smeštene u prostoriju u kojoj je RV vazduha postepeno opadala od vrednosti 90% do 75%, kako bi se obezbedilo lagano i ujednačeno izdvajanje vlage iz kobasica. Kao što je već navedeno, nakon perioda sušenja kobasice su prenete u industrijsku komoru sa konstantnim termo-higrometrijskim uslovima (10°C, 75% RV), gde su čuvane do 120. dana radi zrenja.

### 5.1.3. TREĆA PROIZVODNA SEZONA

Na graficima 5.6. i 5.7. su prikazani termo-higrometrijski uslovi, odnosno promene temperature i relativne vlažnosti vazduha u prostorijama za dimljenje, sušenje i zrenje tokom 120 dana proizvodnje *Petrovačke kobasice* u tradicionalnim (grupe D1 i D2) i kontrolisanim (industrijskim) uslovima (grupe E1 i E2).



Grafik 5.6. Termo-higrometrijski uslovi u prostorijama za dimljenje i sušenje tokom 90 dana proizvodnje *Petrovačke kobasice* u tradicionalnim uslovima (grupe D1 i D2) i 30 dana čuvanja u kontrolisanim uslovima radi zrenja

Kako se na grafiku 5.6. može uočiti, minimalna temperatura u prostorijama za dimljenje, sušenje (do 90. dana) i zrenje (do 120. dana), tokom proizvodnje *Petrovačke kobasice* u tradicionalnim uslovima, zabeležena je 16. dana proizvodnje i iznosila je  $-1^{\circ}\text{C}$ , dok je maksimalna temperatura, registrovana 80. dana proizvodnje, iznosila  $19,7^{\circ}\text{C}$ . Tokom čitavog perioda proizvodnje prosečna temperatura vazduha u prostorijama za dimljenje, sušenje i zrenje je iznosila  $9,3^{\circ}\text{C}$ . Takođe, na grafiku je uočljivo da je temperatura vazduha tokom prvih 10 dana (period dimljenja) varirala u intervalu od  $1,1$  do  $12,2^{\circ}\text{C}$ . Kobasice su zatim prenete u drugu prostoriju radi sušenja i zrenja do 90. dana. Tokom prvih 10 dana u toj prostoriji temperatura je bila veoma niska (prosečno  $2,51^{\circ}\text{C}$ ), da bi zatim lagano počela da raste do približno 40. dana proizvodnje. Nakon tog perioda sve do kraja procesa sušenja (90. dan) temperatura vazduha u drugoj prostoriji je većinom varirala oko prosečne vrednosti za

čitav period proizvodnje ( $\approx 9^{\circ}\text{C}$ ), a značajnija odstupanja od te vrednosti, odnosno više vrednosti temperature su registrovane u više navrata oko 65. dana i između 75. i 85. dana proizvodnje. Tokom poslednjih 30 dana proizvodnje (zrenje) temperatura vazduha u prostoriji (kontrolisani uslovi) je približno iznosila  $15^{\circ}\text{C}$ .

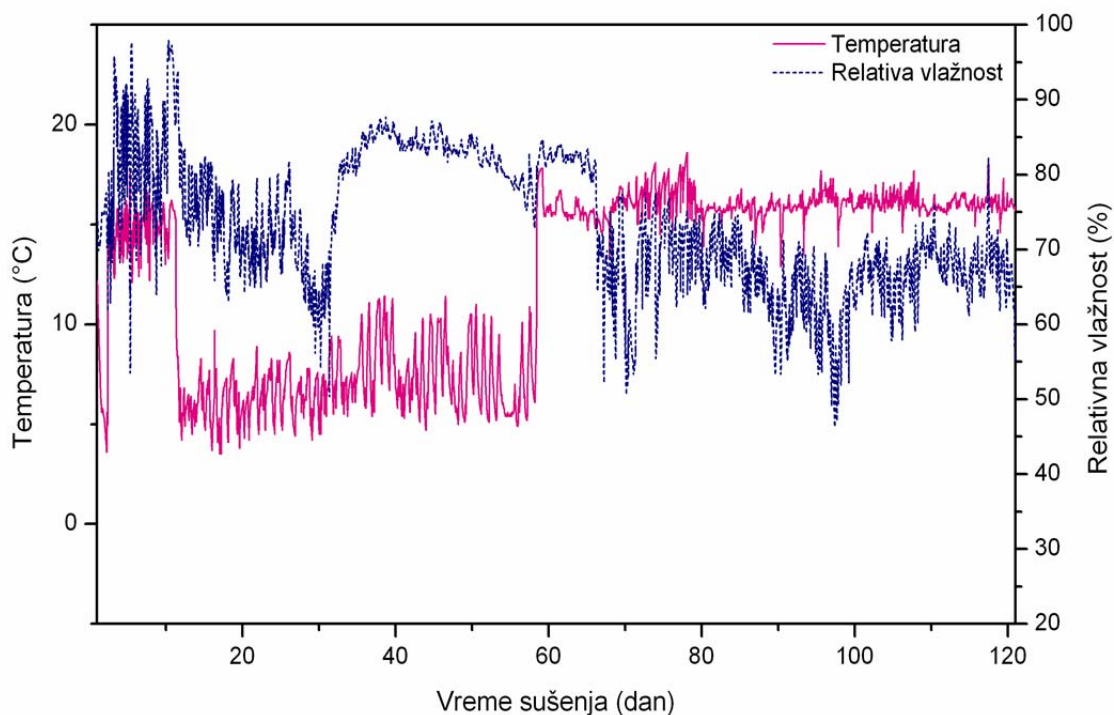
Nakon obrade originalnih kontinuiranih zapisa o termo-higrometrijskim uslovima u komorama u kojima je obavljeno dimljenje, zatim sušenje i zrenje, upotrebom odgovarajućeg računarskog programa, dobijen je podatak da je RV vazduha u tim prostorijama za čitav period proizvodnje prosečno iznosila 78,5%. Kao što se na grafiku 5.6. dalje vidi, najniža vrednost RV vazduha je iznosila 45%, a zabeležena je 30. dana proizvodnje, odnosno tokom sušenja i zrenja u drugoj prostoriji. Maksimalna RV od 99,9% je zabeležena u više navrata u periodu od 75. do 83. dana proizvodnje. Takođe, može se videti da je RV vazduha u toku prvih 10 dana proizvodnje (dimljenje) varirala u intervalu od 69,6% do 98,5%. U narednih 10 dana, kada su kobasice premeštene u prostoriju za sušenje i zrenje, RV je prosečno iznosila 83,7%. Potom je u periodu do 40. dana opala, prosečno iznosivši 77,8%, kada je registrovana i najniža vrednost ovog pokazatelja. Nakon 40. dana pa sve do kraj sušenja (90. dan), RV je bila za oko 6% viša u odnosu na prosečnu vrednost za čitav period proizvodnje. Tokom poslednjeg perioda u trajanju od 30 dana (zrenje) RV je značajno opala i varirala je između 60 i 70%, prosečno iznosivši 65,8%.

Na grafiku 5.7. se može videti da je minimalna temperatura u industrijskim komorama za dimljenje i sušenje, registrovana 16. dana proizvodnje, iznosila  $3,5^{\circ}\text{C}$ , a da je maksimalna temperatura od  $18,6^{\circ}\text{C}$  registrovana 77. dana proizvodnje. Tokom čitavog perioda dimljenja, sušenja i zrenja prosečna registrovana temperatura je bila  $12,3^{\circ}\text{C}$ . Takođe, na grafiku 5.7. je uočljivo da je temperatura u prvih 10 dana (period dimljenja i sušenja u prvoj komori) bila značajno viša ( $\approx 15^{\circ}\text{C}$ ) od temperature u drugoj komori, koja je varirala između  $3,5^{\circ}\text{C}$  i  $11,4^{\circ}\text{C}$  (prosek  $7^{\circ}\text{C}$ ), a u koju su kobasice prenete radi sušenja do 60. dana. Nakon završenog procesa sušenja kobasice su prenete u treću komoru radi zrenja do 120. dana, gde je temperatura približno iznosila  $15^{\circ}\text{C}$ .

Na osnovu podataka dobijenih kontinuiranim registrovanjem termo-higrometrijskih uslova u industrijskim komorama, u kojima je obavljeno dimljenje, sušenje i zrenje, utvrđeno je da je prosečna RV vazduha u tim komorama iznosila 73,6%. Kao što se dalje vidi na grafiku 5.7, najniža vrednost od 46,3% je zabeležena 96. dana proizvodnje, tokom skladištenja u trećoj komori, dok je maksimalna RV od 97,9% zabeležena 9. dana proizvodnje. Takođe, može se uočiti da je RV vazduha bila nešto viša tokom prvih 10 dana



proizvodnje u prvoj komori, i da je približno iznosila 85%. Zatim je u drugoj komori, do 30. dana, u velikoj meri odgovarala prosečnoj vrednosti za čitav period proizvodnje, da bi potom ponovo porasla iznad 80%. U trećoj komori (zrenje) RV je značajno opala i varirala je između 60 i 70%, prosečno iznosivši 65,8%.



Grafik 5.7. Termo-higrometrijski uslovi u komorama za dimljenje, sušenje i zrenje tokom proizvodnje *Petrovačke kobasice* u kontrolisanim uslovima (grupe E1 i E2)

Nakon završenog procesa sušenja u tradicionalnim uslovima (90. dan) kobasice D1 i D2 grupe su prenete u istu industrijsku komoru u kojoj su čuvane i kobasice E1 i E2 grupe do 120. dana radi zrenja, te su i termo-higrometrijski uslovi od 90. do 120. dana, isti na oba prikazana grafika (5.6. i 5.7).

## 5.2.A. REZULTATI ISPITIVANJA KINETIKE PROCESA SUŠENJA IZRAĐENIH GRUPA *PETROVAČKE KOBASICE*

### 5.2.A.1. GUBITAK MASE SUŠENJEM – KALO SUŠENJA

U tabeli 5.1. su prikazani rezultati dobijeni merenjem gubitka mase devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima, u tri proizvodne sezone.

Iz prikazanih rezultata se može videti da je vrednost gubitka mase kobasica na kraju procesa sušenja varirala u intervalu od 33,2%, koliko su nakon 60 dana sušenja u kontrolisanim uslovima zanatskog objekta izgubile kobasice grupe C2, do 45,6%, koliko su od svoje početne mase izgubile kobasice grupe D2 nakon 90 sušenja u tradicionalnim uslovima domaćinstva D. Statistički značajna razlika između vrednosti gubitka mase na kraju procesa sušenja ( $P < 0,05$ ) je utvrđena između grupa kobasica izrađenih u prvoj i drugoj sezoni, dok je u trećoj sezoni statistički značajna razlika vrednosti ovog parametra utvrđena jedino između grupa D2 (45,6%) i E1 (44,5%), iako su te vrednosti numerički posmatrano veoma bliske. Međutim, kako se u istoj tabeli može videti, značajno veće vrednosti gubitka mase kobasica na kraju procesa sušenja ( $P < 0,05$ ) su registrovane za sve četiri grupe izrađene u trećoj sezoni (prosek  $45,1 \pm 0,47\%$ ) u odnosu na one izrađene u prvoj (prosek  $37,7 \pm 1,27\%$ ) i drugoj (prosek  $34,5 \pm 1,77\%$ ) sezoni. Tako su kobasice A2 (39,1%) i B2 (37,5%) grupe, izrađene u prvoj proizvodnoj sezoni, izgubile značajno manji procenat ( $P < 0,05$ ) svoje početne mase u poređenju sa kobasicama D1 (45,2%) i D2 (45,6%) grupe, izrađenim u trećoj sezoni, iako su u oba slučaja kobasice sušene 90 dana u tradicionalnim uslovima. Takođe, značajna razlika u vrednosti posmatranog parametra ( $P < 0,05$ ) je uočena između grupa kobasica C2 (33,2%) i C3 (35,7%), izrađenih u drugoj sezoni, i kobasica grupa E1 (44,5%) i E2 (44,9%), izrađenih u trećoj sezoni, bez obzira na činjenicu da je u oba slučaja proces sušenja obavljen za 60 dana u kontrolisanim uslovima. Nadalje se iz rezultata prikazanih u istoj tabeli vidi da je statistički značajno najveći gubitak mase na kraju procesa proizvodnje (120. dan) registrovan za kobasice E2 grupe, gde je ova vrednost iznosila 52,0%, dok je u isto vreme najmanja vrednost ovog parametra, kao i na kraju procesa sušenja, registrovana za kobasice C2 grupe iznosila 40,4%. Statistički značajna razlika između vrednosti gubitka mase na kraju procesa proizvodnje ( $P < 0,05$ ) je utvrđena između većine grupa kobasica izrađenih u prvoj i drugoj sezoni, osim B2 i C3 grupe, gde su te vrednosti redom iznosile 42,7% i 42,6%.

Tabela 5.1. Prosečne vrednosti gubitka mase (%) devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

Grupa	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	45	60	90	120
<b>A2</b>	0,00	7,00 <sup>f</sup>	13,9 <sup>e</sup>	17,2 <sup>f</sup>	20,0 <sup>e</sup>	25,4 <sup>a</sup>	-	37,1	39,1 <sup>g,A</sup>	43,6 <sup>e,B</sup>
	-	± 0,23	± 0,43	± 0,44	± 0,52	± 0,70	-	± 1,29	± 0,39	± 0,54
<b>B2</b>	0,00	2,18 <sup>b</sup>	7,45 <sup>d</sup>	10,6 <sup>e</sup>	15,1 <sup>c</sup>	24,9 <sup>a</sup>	-	33,4	37,5 <sup>f,A</sup>	42,7 <sup>a,B</sup>
	-	± 0,28	± 0,34	± 0,70	± 0,42	± 0,33	-	± 0,4	± 0,47	± 0,39
<b>B4</b>	0,00	1,96 <sup>b</sup>	16,1 <sup>a</sup>	19,1 <sup>g</sup>	25,6 <sup>f</sup>	33,4 <sup>d</sup>	36,6 <sup>e,A</sup>	41,0 <sup>B</sup>	44,6 <sup>C</sup>	47,7 <sup>f,D</sup>
	-	± 0,10	± 0,40	± 0,73	± 0,67	± 0,52	± 0,50	± 0,58	± 0,55	± 0,46
<b>C2</b>	0,00	3,23 <sup>a</sup>	10,5 <sup>c</sup>	12,6 <sup>a</sup>	16,2 <sup>d</sup>	25,1 <sup>a</sup>	-	33,2 <sup>c,A</sup>	37,7 <sup>B</sup>	40,4 <sup>d,C</sup>
	-	± 0,04	± 0,32	± 0,24	± 0,30	± 0,40	-	± 0,51	± 0,27	± 0,47
<b>C3</b>	0,00	3,21 <sup>a</sup>	10,8 <sup>c</sup>	13,7 <sup>c</sup>	17,4 <sup>a</sup>	27,1 <sup>b</sup>	-	35,7 <sup>d,A</sup>	39,9 <sup>B</sup>	42,6 <sup>a,C</sup>
	-	± 0,51	± 0,4	± 0,55	± 0,33	± 0,22	-	± 0,11	± 0,25	± 0,27
<b>D1</b>	0,00	2,75 <sup>c</sup>	9,19 <sup>b</sup>	13,0 <sup>ab</sup>	17,5 <sup>a</sup>	27,2 <sup>b</sup>	-	40,8	45,2 <sup>ab,A</sup>	50,2 <sup>b,B</sup>
	-	± 0,28	± 0,17	± 0,33	± 0,25	± 0,44	-	± 0,40	± 0,38	± 0,76
<b>D2</b>	0,00	3,24 <sup>a</sup>	9,15 <sup>b</sup>	13,4 <sup>bc</sup>	17,9 <sup>a</sup>	27,8 <sup>b</sup>	-	41,3	45,6 <sup>b,A</sup>	50,5 <sup>bc,B</sup>
	-	± 0,18	± 0,31	± 0,34	± 0,26	± 0,28	-	± 0,11	± 0,33	± 0,71
<b>E1</b>	0,00	5,63 <sup>d</sup>	16,1 <sup>a</sup>	20,7 <sup>d</sup>	26,5 <sup>b</sup>	36,1 <sup>c</sup>	-	44,5 <sup>a,A</sup>	49,5 <sup>B</sup>	51,1 <sup>c,C</sup>
	-	± 0,64	± 0,92	± 0,37	± 0,92	± 1,15	-	± 1,07	± 1,06	± 0,95
<b>E2</b>	0,00	6,15 <sup>e</sup>	15,7 <sup>a</sup>	20,3 <sup>d</sup>	27,0 <sup>b</sup>	36,6 <sup>c</sup>	-	44,9 <sup>ab,A</sup>	49,9 <sup>B</sup>	52,0 <sup>g,C</sup>
	-	± 0,24	± 0,94	± 0,69	± 0,44	± 0,83	-	± 0,81	± 0,75	± 0,71

<sup>a - g</sup> - vrednosti gubitka mase (kalo) označene različitim malim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ) između izrađenih grupa kobasica tokom prvog meseca proizvodnje (2–30. dana), na kraju procesa sušenja (45, 60. i 90. dana), kao i na kraju procesa proizvodnje (120. dana).

<sup>A - D</sup> - vrednosti gubitka mase (kalo) označene različitim velikim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ), u okviru iste grupe, od kraja procesa sušenja (45, 60. i 90. dana) do kraja procesa proizvodnje (120. dana).

U tabeli je sivom bojom posebno označen kraj perioda sušenja za svaku izrađenu grupu kobasica.

U trećoj sezoni, statistički značajno veća vrednost gubitka mase ( $P < 0,05$ ) je utvrđena za kobasice E2 grupe (52,0%), izrađene uz dodatak starter kulture i sušene u kontrolisanim uslovima, u odnosu na ostale izrađene grupe kobasica iz treće, ali i iz ostalih proizvodnih sezona. Na osnovu rezultata prikazanih u istoj tabeli može se zapaziti da su vrednosti gubitka mase na kraju procesa proizvodnje za sve četiri izrađene grupe kobasica u trećoj sezoni (prosek 51,0%) bile statistički značajno veće ( $P < 0,05$ ) od vrednosti istog pokazatelja za grupe kobasica izrađenih u prvoj (prosek 44,7%), odnosno drugoj proizvodnoj sezoni (prosek 41,5%).

Takođe, iz rezultata prikazanih u istoj tabeli se može videti da su vrednosti gubitka mase kobasica u okviru svih devet izrađenih grupa statistički značajno ( $P < 0,05$ ) porasle od kraja procesa sušenja do kraja procesa proizvodnje, odnosno 120. dana. Ova činjenica je sasvim logična i opravdana ako se uzme u obzir da je deo kobasica po završetku procesa sušenja čuvan neupakovan do 120. dana radi zrenja (rezultati prikazani u ovoj tabeli), te su kobasice nadalje gubile vlagu (masu) težeći da dostignu ravnotežnu vlažnost u datim termo-higrometrijskim uslovima.

#### 5.2.A.2. SMANJENJE DIJAMETRA KOBASICA

U tabeli 5.2. su prikazani rezultati dobijeni merenjem dijametra kobasica devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima, u tri proizvodne sezone.

Iz prikazanih rezultata se može videti da je dijametar kobasica odmah nakon punjenja u omotače varirao od vrednosti 58,4 mm do 59,1 mm. Tokom procesa proizvodnje, usled izdvajanja vode i povezivanja komadića mišićnog i masnog tkiva došlo je do redukcije dijametra kobasica. Tako je u zavisnosti od načina sušenja, odnosno od intenziteta i brzine tog procesa, smanjenje dijametra teklo različitim brzinama za različite grupe kobasica. Na kraju procesa sušenja najmanji dijametar su imale kobasice D2 (45,6 mm) i E2 (45,8 mm) grupe, proizvedene tokom treće sezone uz dodatak starter kulture, dok su statistički značajno najveći prečnik ( $P < 0,05$ ) imale kobasice C2 (51,6 mm) i C3 (51,3 mm) grupe, proizvedene u drugoj sezoni, nakon 60 dana sušenja u kontrolisanim uslovima. Nakon 120 dana proizvodnje dijametar kobasica koje nisu bile upakovane je dodatno redukovano usled daljeg sušenja, te je minimalna vrednost ovog pokazatelja od 43,8 mm i 43,9 mm registrovana za kobasice grupe B4 i D2, redom. Nasuprot, statistički značajno ( $P < 0,05$ ) najveći prečnik je ponovo izmeren na kobasicama proizvedenim tokom druge sezone (prosek 48,6 mm).

Tabela 5.2. Prosečne vrednosti dijametra (mm) devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

Grupa	Vreme (dan)											120V	120M
	0	2	6	9	15	30	45	60	90	120			
A2	58,8 <sup>ab</sup>	57,1 <sup>ab</sup>	55,1 <sup>bc</sup>	54,2 <sup>ac</sup>	53,1 <sup>a</sup>	51,2 <sup>a</sup>	-	49,2	46,5 <sup>bc,A</sup>	45,0 <sup>ab,B</sup>	45,7 <sup>a,AB</sup>	46,3 <sup>a,A</sup>	
	± 0,38	± 0,14	± 0,63	± 0,38	± 0,38	± 0,14	-	± 0,14	± 0,50	± 0,43	± 0,29	± 0,58	
B2	58,9 <sup>ab</sup>	58,5 <sup>d</sup>	57,8 <sup>de</sup>	55,5 <sup>e</sup>	54,7 <sup>c</sup>	54,0 <sup>e</sup>	-	49,4	46,8 <sup>c,B</sup>	46,0 <sup>b,AB</sup>	45,6 <sup>a,A</sup>	46,1 <sup>a,AB</sup>	
	± 0,14	± 0,43	± 0,25	± 0,25	± 0,14	± 0,43	-	± 0,14	± 0,25	± 0,43	± 0,63	± 0,52	
B4	59,1 <sup>b</sup>	58,0 <sup>cd</sup>	55,0 <sup>abc</sup>	53,8 <sup>c</sup>	52,8 <sup>a</sup>	50,7 <sup>a</sup>	49,5 <sup>f,C</sup>	-	44,3 <sup>A</sup>	43,8 <sup>a,A</sup>	48,6 <sup>e,B</sup>	48,8 <sup>c,BC</sup>	
	± 0,29	± 0,25	± 0,00	± 0,43	± 0,25	± 0,29	± 0,25	-	± 0,14	± 0,14	± 0,80	± 0,43	
C2	58,7 <sup>ab</sup>	58,4 <sup>d</sup>	58,1 <sup>e</sup>	56,7 <sup>d</sup>	56,2 <sup>d</sup>	52,9 <sup>b</sup>	-	51,6 <sup>d,B</sup>	-	48,8 <sup>c,A</sup>	49,6 <sup>c,A</sup>	51,4 <sup>b,B</sup>	
	± 0,41	± 0,58	± 0,26	± 0,41	± 0,75	± 0,74	-	± 0,34	-	1,44	± 0,66	± 0,49	
C3	58,4 <sup>a</sup>	58,0 <sup>cd</sup>	57,5 <sup>de</sup>	56,2 <sup>d</sup>	56,1 <sup>d</sup>	52,8 <sup>b</sup>	-	51,3 <sup>d,B</sup>	49,4 <sup>A</sup>	48,3 <sup>c,C</sup>	49,8 <sup>c,A</sup>	51,0 <sup>b,B</sup>	
	± 0,49	± 0,55	± 0,64	± 0,68	± 0,58	± 0,33	-	± 0,46	± 0,49	± 0,61	± 0,75	± 0,87	
D1	58,4 <sup>a</sup>	57,6 <sup>bc</sup>	57,3 <sup>d</sup>	54,8 <sup>a</sup>	54,1 <sup>c</sup>	50,9 <sup>a</sup>	-	47,5	46,1 <sup>abc,A</sup>	44,3 <sup>a,B</sup>	45,8 <sup>a,A</sup>	-	
	± 0,14	± 0,25	± 0,46	± 0,38	± 0,25	± 0,38	-	± 0,71	± 0,52	± 0,54	± 0,24	-	
D2	58,5 <sup>a</sup>	57,4 <sup>abc</sup>	55,6 <sup>c</sup>	54,6 <sup>a</sup>	53,0 <sup>a</sup>	51,3 <sup>a</sup>	-	46,9	45,6 <sup>a,A</sup>	43,9 <sup>a,B</sup>	45,3 <sup>ab,A</sup>	-	
	± 0,41	± 0,48	± 0,25	± 0,14	± 0,58	± 0,29	-	± 0,83	± 0,43	± 0,60	± 0,35	-	
E1	58,7 <sup>ab</sup>	57,1 <sup>ab</sup>	54,7 <sup>ab</sup>	52,4 <sup>b</sup>	51,4 <sup>b</sup>	48,9 <sup>d</sup>	-	47,8 <sup>e,A</sup>	46,1 <sup>C</sup>	44,8 <sup>ab,B</sup>	47,4 <sup>d,A</sup>	-	
	± 0,13	± 0,48	± 0,63	± 0,52	± 0,48	± 0,52	-	± 0,87	± 0,59	± 0,63	± 0,43	-	
E2	58,6 <sup>ab</sup>	56,8 <sup>a</sup>	54,3 <sup>a</sup>	52,4 <sup>b</sup>	51,8 <sup>b</sup>	47,7 <sup>c</sup>	-	45,8 <sup>ab,B</sup>	44,6 <sup>A</sup>	44,1 <sup>a,A</sup>	44,6 <sup>b,A</sup>	-	
	± 0,14	± 0,29	± 0,52	± 0,31	± 0,29	± 0,24	-	± 0,61	± 0,52	± 0,59	± 0,48	-	

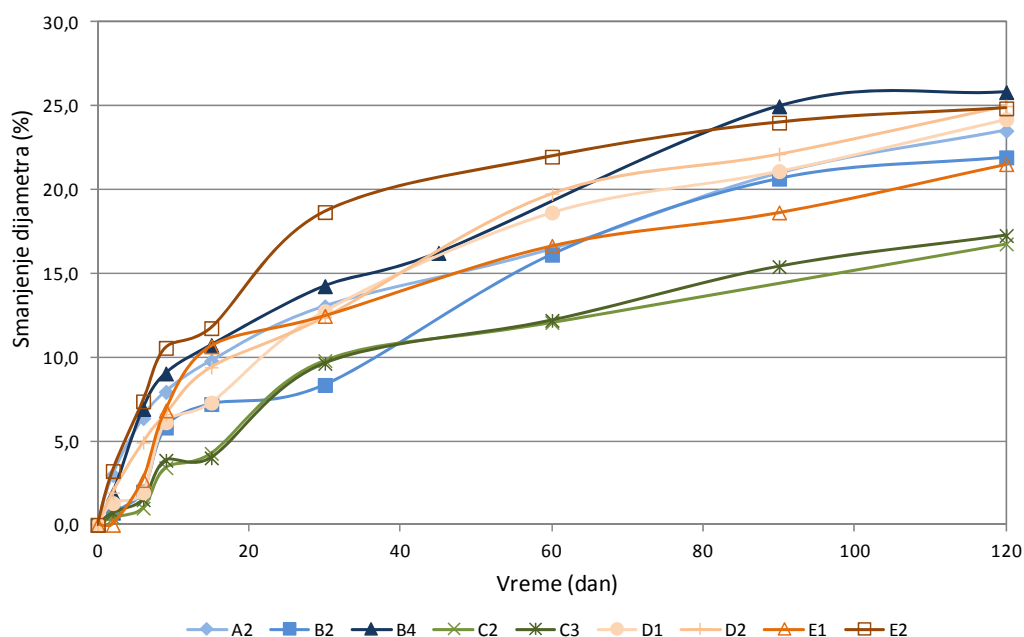
<sup>a-f</sup> - vrednosti dijametra označene različitim malim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ) između izrađenih grupa kobasica tokom prvog meseca proizvodnje (0–30. dana), na kraju procesa sušenja (45, 60. i 90. dana), kao i na kraju procesa proizvodnje (120. dana).

<sup>A-D</sup> - vrednosti dijametra označene različitim velikim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ), u okviru iste grupe, od kraja procesa sušenja (45, 60. i 90. dana) do kraja procesa proizvodnje (120. dana).

U tabeli je sivom bojom posebno označen kraj perioda sušenja za svaku izrađenu grupu kobasica.

V, M – kobasice koje su nakon završetka perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) i u modifikovanoj atmosferi (M) radi zrenja do 120. dana.

Radi boljeg uočavanja trenda smanjenja prečnika kobasica tokom procesa proizvodnje rezultati navedeni u tabeli 5.2. su prikazani i na grafiku 5.8. u vidu zavisnosti smanjenja dijametra (%) od vremena. Očekivano, najveća redukcija dijametra u odnosu na početnu vrednost je registrovana za kobasice B4, D2 i E2 grupe, gde je ta vrednost iznosila 25,9%, 25,0% i 24,7, redom, dok je najmanje smanjenje prečnika od 16,9% i 17,3% utvrđeno za kobasice C2 i C3 grupe, redom.



Grafik 5.8. Smanjenje dijametra (%) devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

Dalje se iz rezultata prikazanih u tabeli 5.2. može videti da je prečnik kobasica koje su po završetku procesa sušenja upakovane u vakuumu (V) ili u modifikovanoj atmosferi (M) uglavnom ostao na nivou vrednosti ovog parametra utvrđenim neposredno pre pakovanja. Naime, iako je pakovanjem zaustavljeno dalje sušenje određena redukcija dijametra tokom perioda zrenja je ipak registrovana, ali nastale promene u većini slučajeva nisu bile statistički značajne ( $P > 0,05$ ). Prečnik kobasica upakovanih u vakuumu je varirao od minimalne vrednosti utvrđene u grupi E2 (44,6 mm) do maksimalne vrednosti utvrđene u grupi C3 (49,8 mm). Kada su u pitanju kobasice upakovane u modifikovanoj atmosferi, vrednost ovog pokazatelja je varirala u intervalu od 46,1 mm (B2) do 51,4 mm (C2).

### 5.2.A.3. AKTIVNOST VODE – AW VREDNOST

U tabeli 5.3. su prikazani rezultati dobijeni merenjem aktivnosti vode ( $a_w$ ) u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima, u tri proizvodne sezone.

Kako se iz prikazanih rezultata može videti, aktivnost vode izrađenih nadeva za kobasice je značajno varirala ( $P < 0,05$ ) od vrednosti 0,95, u prvoj proizvodnoj sezoni, do 0,97, kolika  $a_w$  vrednost je izmerena u nadevu neposredno pre punjenja u omotače u trećoj proizvodnoj sezoni. Nadalje se iz prikazanih rezultata može videti da je  $a_w$  vrednost kobasica na kraju procesa sušenja varirala u intervalu od 0,86, koliko su nakon 90 dana sušenja u tradicionalnim uslovima domaćinstva D imale kobasice D1 i D2 grupe, do 0,91, koliko su aktivnost vode imale kobasice B4, C2 i C3 grupe, nakon 45, odnosno 60 dana sušenja u kontrolisanim uslovima. Dalje se može uočiti da je većina grupa kobasica izrađenih u okviru iste proizvodne sezone imala iste ili vrlo slične  $a_w$  vrednosti na kraju procesa sušenja. To jedino nije bio slučaj sa grupom B4, čija  $a_w$  vrednost (0,91) je bila statistički značajno veća ( $P < 0,05$ ) od  $a_w$  vrednosti grupa A2 (0,89) i B2 (0,89), proizvedenih u istoj sezoni.

Takođe, u istoj tabeli se može videti da su značajno manje vrednosti aktivnosti vode kobasica na kraju procesa sušenja ( $P < 0,05$ ) registrovane za sve četiri grupe izrađene u trećoj sezoni (prosek 0,87) u odnosu na one izrađene u prvoj (prosek 0,90) i drugoj (prosek 0,91) proizvodnoj sezoni. Tako je  $a_w$  vrednost kobasica D1 i D2 grupe iznosila 0,86 i bila značajno manja ( $P < 0,05$ ) od  $a_w$  vrednosti kobasica A2 i B2 grupe, koja je iznosila 0,89, iako su u oba slučaja kobasice sušene 90 dana u tradicionalnim uslovima. Takođe, značajno manja vrednost ( $P < 0,05$ ) posmatranog parametra je registrovana u kobasicama grupa E1 i E2 (0,87) u poređenju sa kobasicama grupa C2 i C3, gde je ta vrednost iznosila 0,91, bez obzira na činjenicu da je u oba slučaja proces sušenja obavljen za 60 dana u kontrolisanim uslovima.

Iz rezultata prikazanih u tabeli 5.3. se dalje može videti da je statistički značajno ( $P < 0,05$ ) najmanja aktivnost vode na kraju procesa proizvodnje (120. dan) registrovana u kobasicama E1 i E2 grupe, gde je ova vrednost iznosila 0,78, dok je u isto vreme najveća vrednost ovog parametra registrovana u kobasicama A2 i C2 grupe iznosila 0,86. Vrednost  $a_w$  koja odgovara aritmetičkoj sredini ove dve ekstremne vrednosti (0,82) je registrovana u grupama B4, C3 i D2, dok je u D1 registrovana numerički veoma bliska vrednost, odnosno 0,81. U grupi B2 je utvrđena aktivnost vode bila numerički i statistički veoma bliska ( $P > 0,05$ ) maksimalnoj izmerenoj  $a_w$  vrednosti na kraju procesa proizvodnje, a iznosila je 0,85.

Tabela 5.3. Prosečne vrednosti aktivnosti vode ( $a_w$ ) u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

Grupa	Vreme (dan)											120V	120M
	0	2	6	9	15	30	45	60	90	120			
A2	0,95 <sup>bc</sup>	0,95 <sup>ab</sup>	0,94 <sup>bc</sup>	0,94 <sup>a</sup>	0,94 <sup>abc</sup>	0,93 <sup>bd</sup>	-	0,90	0,89 <sup>d,A</sup>	0,86 <sup>de,B</sup>	0,89 <sup>cd,A</sup>	0,89 <sup>ab,A</sup>	
	± 0,01	± 0,00	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,00	-	± 0,00	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,00	
B2	0,95 <sup>b</sup>	0,95 <sup>ab</sup>	0,95 <sup>ac</sup>	0,95 <sup>b</sup>	0,94 <sup>ac</sup>	0,93 <sup>de</sup>	-	0,91	0,89 <sup>d,A</sup>	0,85 <sup>d,B</sup>	0,88 <sup>abc,A</sup>	0,88 <sup>b,A</sup>	
	± 0,01	± 0,00	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,00	-	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,00	
B4	0,95 <sup>b</sup>	0,95 <sup>a</sup>	0,94 <sup>e</sup>	0,93 <sup>a</sup>	0,92 <sup>d</sup>	0,91 <sup>c</sup>	0,91 <sup>c,A</sup>	-	0,84 <sup>C</sup>	0,82 <sup>ab,B</sup>	0,90 <sup>d,A</sup>	0,89 <sup>a,A</sup>	
	± 0,01	± 0,00	± 0,01	± 0,00	± 0,01	± 0,01	± 0,01	-	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	
C2	0,96 <sup>ac</sup>	0,96 <sup>abc</sup>	0,95 <sup>ab</sup>	0,94 <sup>a</sup>	0,93 <sup>de</sup>	0,92 <sup>ab</sup>	-	0,91 <sup>c,C</sup>	-	0,86 <sup>e,B</sup>	0,89 <sup>bcd,A</sup>	0,90 <sup>a,A</sup>	
	± 0,01	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	-	± 0,01	-	± 0,01	± 0,01	± 0,00	
C3	0,96 <sup>c</sup>	0,96 <sup>bcd</sup>	0,95 <sup>ab</sup>	0,94 <sup>a</sup>	0,93 <sup>bde</sup>	0,92 <sup>ab</sup>	-	0,91 <sup>c,C</sup>	0,88 <sup>A</sup>	0,82 <sup>b,B</sup>	0,87 <sup>a,A</sup>	0,87 <sup>c,A</sup>	
	± 0,01	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,01	± 0,01	-	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	
D1	0,97 <sup>a</sup>	0,97 <sup>e</sup>	0,97 <sup>f</sup>	0,96 <sup>c</sup>	0,95 <sup>c</sup>	0,93 <sup>de</sup>	-	0,90	0,86 <sup>a,B</sup>	0,81 <sup>a,A</sup>	0,87 <sup>ab,C</sup>	-	
	± 0,01	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,01	± 0,01	-	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,00	-	
D2	0,97 <sup>a</sup>	0,97 <sup>de</sup>	0,96 <sup>d</sup>	0,96 <sup>bc</sup>	0,94 <sup>ac</sup>	0,94 <sup>e</sup>	-	0,90	0,86 <sup>ab,B</sup>	0,82 <sup>ab,A</sup>	0,88 <sup>abc,C</sup>	-	
	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,01	± 0,00	± 0,01	-	± 0,01	± 0,00	± 0,01	± 0,01	-	
E1	0,97 <sup>a</sup>	0,97 <sup>cd</sup>	0,96 <sup>cd</sup>	0,95 <sup>bc</sup>	0,94 <sup>abc</sup>	0,92 <sup>abc</sup>	-	0,87 <sup>ab,C</sup>	0,81 <sup>B</sup>	0,78 <sup>c,A</sup>	0,88 <sup>abc,D</sup>	-	
	± 0,01	± 0,00	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,01	-	± 0,09	± 0,01	± 0,01	± 0,00	-	
E2	0,97 <sup>a</sup>	0,96 <sup>cd</sup>	0,95 <sup>acd</sup>	0,95 <sup>b</sup>	0,94 <sup>ab</sup>	0,91 <sup>ac</sup>	-	0,87 <sup>b,A</sup>	0,81 <sup>C</sup>	0,78 <sup>c,B</sup>	0,88 <sup>ab,A</sup>	-	
	± 0,00	± 0,00	± 0,01	± 0,00	± 0,01	± 0,00	-	± 0,00	± 0,01	± 0,00	± 0,00	-	

<sup>a-f</sup> - vrednosti aktivnosti vode ( $a_w$ ) označene različitim malim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ) između izrađenih grupa kobasica tokom prvog meseca proizvodnje (0–30. dana), na kraju procesa sušenja (45, 60. i 90 dana), kao i na kraju procesa proizvodnje (120. dana).

<sup>A-D</sup> - vrednosti aktivnosti vode ( $a_w$ ) označene različitim velikim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ), u okviru iste grupe, od kraja procesa sušenja (45, 60. i 90. dana) do kraja procesa proizvodnje (120 dana).

U tabeli je sivom bojom posebno označen kraj perioda sušenja za svaku izrađenu grupu kobasica.

V, M – kobasice koje su nakon završetka perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) i u modifikovanoj atmosferi (M) radi zrenja do 120. dana.



Utvrđene aktivnosti vode u kobasicama koje su po završetku procesa sušenja upakovane u vakuum (V) i modifikovanoj atmosferi (M) su na kraju procesa proizvodnje (120. dan) za većinu grupa bile iste ili slične onima utvrđenim u kobasicama neposredno pre pakovanja. Ovaj podatak je očekivan i logičan ako se uzme u obzir da se pakovanjanjem prvenstveno sprečava dalje sušenje kobasica. Na osnovu ove činjenice je i utvrđena značajnost razlika u vrednosti ovog parametra između pojedinih grupa upakovanih kobasica bila slična onoj utvrđenoj na kraju procesa sušenja. Tako je u okviru svih izrađenih grupa kobasica utvrđena statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) između  $a_w$  vrednosti na kraju procesa sušenja i vrednosti ovog parametra na kraju procesa proizvodnje neupakovanih kobasica, dok to nije bio slučaj sa kobasicama grupa A2, B2, B4 i E2 upakovanim u vakuumu ili modifikovanoj atmosferi ( $P > 0,05$ ). Ako se posmatraju grupe C2, D1, D2 i E1 može se uočiti da su vrednosti  $a_w$  između kojih je utvrđena statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) numerički posmatrano ipak veoma bliske. Donekle neočekivane vrednosti aktivnosti vode su utvrđene u kobasicama C2 grupe, gde je i nakon pakovanja kobasica došlo do značajnog pada  $a_w$  vrednosti od 0,91 do 0,87 ( $P < 0,05$ ). Međutim, vrlo je interesantno da je isti pad vrednosti registrovan pri oba načina pakovanja, te je u ovim kobasicama najverovatnije došlo do pregrupisavanja, odnosno vezivanja (imobilizacije) slobodne vode.

#### 5.2.A.4. VREDNOST pH

U tabeli 5.4. su prikazani rezultati dobijeni merenjem vrednosti pH u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima, u tri proizvodne sezone. Radi jasnijeg uočavanja trenda promena vrednosti pH u kobasicama svih eksperimentalnih grupa ovi rezultati su prikazani i na grafiku 5.9. u vidu zavisnosti vrednosti pH od vremena.

Kako se može videti, vrednost pH izrađenih nadeva za kobasice je značajno varirala ( $P < 0,05$ ) od vrednosti 5,55, u trećoj proizvodnoj sezoni, do 5,81, kolika vrednost pH je izmerena u mašinski mešanom nadevu neposredno pre punjenja u omotače, u drugoj proizvodnoj sezoni (grupa C3). Tokom prve faze procesa proizvodnje u kobasicama je usled metaboličke aktivnosti BMK došlo do fermentacije prisutnih ugljenih hidrata, što je izazvalo pad vrednosti pH. S obzirom da je u pitanju kompleksna promena uslovljena velikim brojem faktora, od kojih su najbitniji temperatura i sastav prisutne mikroflore, u izrađenim grupama *Petrovačke kobasice* je utvrđena različita brzina i intenzitet promene posmatranog parametra.

Tabela 5.4. Prosečne vrednosti pH u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

Grupa	Vreme (dan)											120V	120M
	0	2	6	9	15	30	45	60	90	120			
A2	5,67 <sup>b</sup>	5,63 <sup>b</sup>	5,56 <sup>a</sup>	5,53 <sup>a</sup>	5,48 <sup>b</sup>	5,47 <sup>c</sup>	-	5,30	5,33 <sup>d,B</sup>	5,52 <sup>e,A</sup>	5,50 <sup>b,A</sup>	5,42 <sup>c,C</sup>	
	± 0,01	± 0,01	± 0,06	± 0,03	± 0,03	± 0,02	-	± 0,01	± 0,03	± 0,02	± 0,02	± 0,01	
B2	5,69 <sup>b</sup>	5,67 <sup>b</sup>	5,65 <sup>bc</sup>	5,66 <sup>b</sup>	5,63 <sup>f</sup>	5,59 <sup>f</sup>	-	5,40	5,47 <sup>g,B</sup>	5,61 <sup>c,A</sup>	5,60 <sup>g,A</sup>	5,67 <sup>e,C</sup>	
	± 0,03	± 0,03	± 0,03	± 0,02	± 0,04	± 0,06	-	± 0,02	± 0,02	± 0,02	± 0,06	± 0,02	
B4	5,69 <sup>b</sup>	5,64 <sup>b</sup>	5,60 <sup>ab</sup>	5,65 <sup>b</sup>	5,45 <sup>b</sup>	5,27 <sup>d</sup>	5,34 <sup>d,A</sup>	-	5,44 <sup>B</sup>	5,62 <sup>c,E</sup>	5,49 <sup>b,C</sup>	5,55 <sup>d,D</sup>	
	± 0,03	± 0,04	± 0,02	± 0,01	± 0,16	± 0,15	± 0,01	-	± 0,02	± 0,03	± 0,06	± 0,06	
C2	5,74 <sup>c</sup>	5,75 <sup>c</sup>	5,67 <sup>c</sup>	5,26 <sup>f</sup>	5,06 <sup>a</sup>	4,94 <sup>ab</sup>	-	5,00 <sup>f,A</sup>	-	5,33 <sup>b,D</sup>	5,26 <sup>e,C</sup>	5,21 <sup>a,B</sup>	
	± 0,04	± 0,02	± 0,10	± 0,15	± 0,06	± 0,02	-	± 0,03	-	± 0,03	± 0,02	± 0,01	
C3	5,81 <sup>d</sup>	5,72 <sup>c</sup>	5,53 <sup>a</sup>	5,10 <sup>e</sup>	5,01 <sup>a</sup>	4,99 <sup>bc</sup>	-	5,06 <sup>a,C</sup>	5,15 <sup>D</sup>	5,33 <sup>b,AB</sup>	5,38 <sup>f,B</sup>	5,31 <sup>b,A</sup>	
	± 0,02	± 0,02	± 0,04	± 0,06	± 0,03	± 0,02	-	± 0,02	± 0,03	± 0,05	± 0,05	± 0,04	
D1	5,55 <sup>a</sup>	5,54 <sup>a</sup>	5,58 <sup>ab</sup>	5,51 <sup>a</sup>	5,26 <sup>e</sup>	5,04 <sup>c</sup>	-	5,03	5,15 <sup>c,A</sup>	5,22 <sup>d,B</sup>	5,14 <sup>d,A</sup>	-	
	± 0,03	± 0,03	± 0,05	± 0,03	± 0,03	± 0,04	-	± 0,03	± 0,03	± 0,06	± 0,02	-	
D2	5,55 <sup>a</sup>	5,57 <sup>a</sup>	5,55 <sup>a</sup>	5,35 <sup>g</sup>	5,08 <sup>a</sup>	4,93 <sup>ab</sup>	-	4,99	5,12 <sup>bc,A</sup>	5,10 <sup>a,A</sup>	5,02 <sup>a,B</sup>	-	
	± 0,03	± 0,03	± 0,03	± 0,04	± 0,05	± 0,04	-	± 0,03	± 0,03	± 0,03	± 0,01	-	
E1	5,55 <sup>a</sup>	5,55 <sup>a</sup>	4,99 <sup>e</sup>	4,87 <sup>d</sup>	4,89 <sup>d</sup>	4,93 <sup>ab</sup>	-	5,09 <sup>ab,A</sup>	5,22 <sup>C</sup>	5,10 <sup>a,A</sup>	4,98 <sup>a,B</sup>	-	
	± 0,03	± 0,01	± 0,02	± 0,06	± 0,05	± 0,02	-	± 0,04	± 0,03	± 0,07	± 0,01	-	
E2	5,55 <sup>a</sup>	5,55 <sup>a</sup>	4,80 <sup>d</sup>	4,75 <sup>c</sup>	4,76 <sup>c</sup>	4,85 <sup>a</sup>	-	4,96 <sup>e,B</sup>	5,16 <sup>D</sup>	5,06 <sup>a,C</sup>	4,90 <sup>c,A</sup>	-	
	± 0,03	± 0,03	± 0,05	± 0,04	± 0,04	± 0,02	-	± 0,02	± 0,01	± 0,02	± 0,01	-	

<sup>a-g</sup> - vrednosti pH označene različitim malim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ) između izrađenih grupa kobasica tokom prvog meseca proizvodnje (0–30. dana), na kraju procesa sušenja (45, 60. i 90. dana), kao i na kraju procesa proizvodnje (120. dana).

<sup>A-D</sup> - vrednosti pH označene različitim velikim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ), u okviru iste grupe, od kraja procesa sušenja (45, 60. i 90. dana) do kraja procesa proizvodnje (120. dana).

U tabeli je sivom bojom posebno označen kraj perioda sušenja za svaku izrađenu grupu kobasica.

V, M – kobasice koje su nakon završetka perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) i u modifikovanoj atmosferi (M) radi zrenja do 120. dana.

Najbrži pad vrednosti pH je utvrđen u kobasicama E1 i E2 grupe, gde su minimalne vrednosti ovog parametra od 4,87 i 4,75 postignute već nakon 9 dana proizvodnje, redom (Grafik 5.9). Takođe, iz rezultata prikazanih u tabeli 5.4. se može videti da je i intenzitet tog pada bio veoma značajan, iznoseći 0,68 i 0,80 jedinica, redom. Nadalje, može se uočiti da je minimum vrednosti pH u kobasicama grupa B4, C2, C3 i D2 postignut nakon 30 dana fermentacije, a iznosio je 5,27; 4,94; 4,99 i 4,93, redom. Ukoliko se uporede vrednosti pH sirovog nadeva i kobasica pomenutih grupa nakon 30 dana fermentacije može se uočiti da je najveći pad vrednosti ovog parametra, zabeležen u grupi C3, iznosio 0,82 jedinice. Najmanji i najsporiji pad pH je utvrđen u kobasicama grupa A2 i B2, izrađenim u tradicionalnim uslovima domaćinstva, gde su minimalne vrednosti ovog parametra, od 5,30 i 5,40, redom, postignute tek nakon dva meseca proizvodnje. Minimalna vrednost pH je u kobasicama grupe D1 takođe postignuta tek nakon 60 dana, ali je odgovarajući pad (0,52) bio veći od onog postignutog u kobasicama grupa A2 i B2. Nakon postignutog minimuma, vrednost pH je u svim grupama kobasica porasla do kraja procesa proizvodnje.

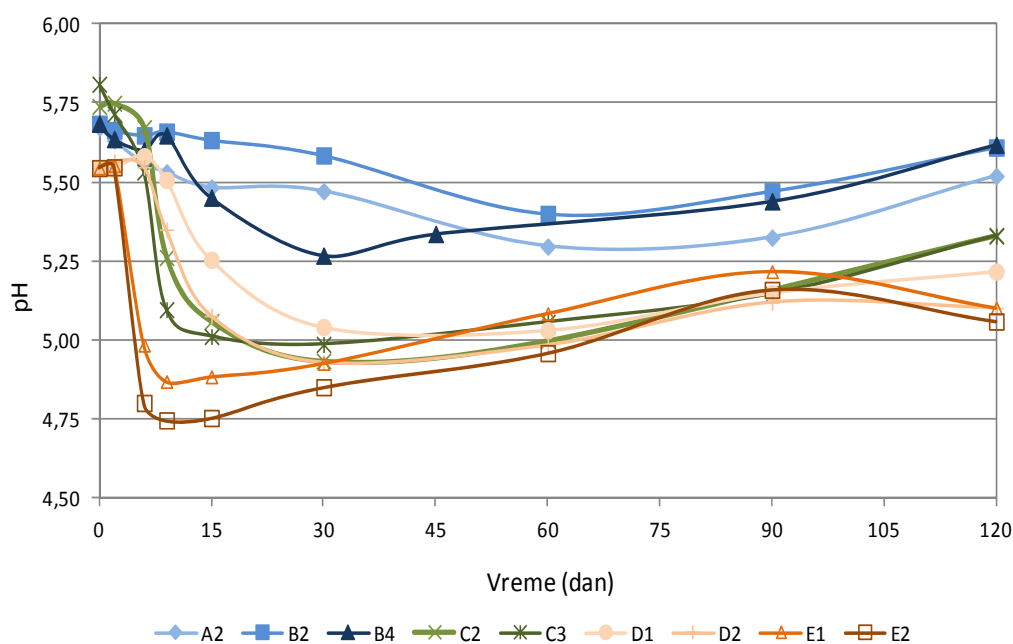
Kako se iz rezultata prikazanih u istoj tabeli dalje može videti, vrednost pH kobasica na kraju procesa sušenja je varirala u intervalu od 4,96, koliko su nakon 60 dana sušenja u kontrolisanim uslovima imale kobasice E1 grupe, do 5,47, koliko su vrednost pH imale kobasice B2 grupe, nakon 90 dana sušenja u tradicionalnim uslovima domaćinstva B.

Zatim se uočava da je većina grupa kobasica izrađenih u okviru iste proizvodne sezone imala slične vrednosti pH na kraju procesa sušenja ( $P > 0,05$ ). To međutim nije bio slučaj sa grupama B2 i E2 koje su na kraju procesa sušenja imale značajno veću, odnosno značajno manju vrednost ovog parametra ( $P < 0,05$ ) u poređenju sa vrednostima pH ostalih grupa proizvedenih u okviru iste proizvodne sezone. Takođe, u istoj tabeli se može videti da su značajno veće vrednosti pH ( $P < 0,05$ ), na kraju procesa sušenja, utvrđene u kobasicama proizvedenim u prvoj proizvodnoj sezoni (prosek 5,38), u odnosu na one proizvedene u drugoj (prosek 5,03) i trećoj (prosek 5,08) sezoni izrade.

Iz rezultata prikazanih u tabeli 5.4. se dalje može videti da je statistički značajno ( $P < 0,05$ ) najmanja vrednost pH na kraju procesa proizvodnje (120. dan) registrovana u kobasicama E2 grupe (5,06), dok su najveće vrednosti ovog parametra registrovane u kobasicama B2 (5,61) i B4 (5,62) grupe. Kao i na kraju procesa sušenja, uočava se da je vrednost pH većine kobasica izrađenih u okviru iste proizvodne sezone bila slična ( $P > 0,05$ ). Grupe A2 i D1 odstupaju od ovog obrasca s obzirom da su njihove vrednosti pH značajno manje, odnosno veće ( $P < 0,05$ ) od vrednosti posmatranog parametra utvrđene u ostalim

grupama kobasica izrađenim u okviru iste sezone. Takođe, u tabeli 5.4. i na Grafiku 5.9. se može videti da su značajno veće vrednosti pH ( $P<0,05$ ), na kraju procesa proizvodnje, utvrđene u kobasicama proizvedenim u prvoj proizvodnoj sezoni (prosek 5,58), u odnosu na one proizvedene u drugoj (prosek 5,33) i trećoj (prosek 5,12) sezoni izrade.

Utvrđene vrednosti pH u kobasicama, koje su po završetku procesa sušenja upakovane u vakuum, su na kraju procesa proizvodnje (120. dan) u prvoj proizvodnoj sezoni značajno varirale ( $P<0,05$ ) od vrednosti 5,49 (B4) do 5,60 (B2), u drugoj od 5,26 (C2) do 5,38 (C3) i u trećoj od 4,90 (E2) do 5,14 (D1). Kao što se u istoj tabeli može uočiti, kobasice proizvedene u prvoj sezoni izrade su i nakon pakovanja imale značajno veće ( $P<0,05$ ) vrednosti pH (prosek 5,53) od onih proizvedenih u drugoj (prosek 5,32) i trećoj (prosek 5,01) proizvodnoj sezoni, a značajnost utvrđenih razlika između pojedinih grupa je bila slična onoj utvrđenoj 120. dana za neupakovane kobasice. Tok promena pH u kobasicama koje su po završetku procesa sušenja upakovane u modifikovanoj atmosferi je tekao nešto drugačije, te je između vrednosti ovog parametra za sve izrađene grupe, 120. dana proizvodnje, utvrđena statistički značajna razlika ( $P<0,05$ ). Vrednost pH u ovim kobasicama je značajno varirala ( $P<0,05$ ) od 5,21 (C2) do 5,67 (B2).



Grafik 5.9. Promene vrednosti pH devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom sušenja i zrenja u tradicionalnim i industrijskim uslovima

Kada se posmatra trend promena pH (Grafik 5.9) od kraja procesa sušenja do kraja procesa proizvodnje kobasica (120. dan), uočava se da je u okviru grupa kobasica proizvedenih u prvoj i drugoj proizvodnoj sezoni došlo do značajnog porasta vrednosti ovog

parametra ( $P < 0,05$ ), bez obzira da li su u pitanju upakovane ili neupakovane kobasice. Tako je u neupakovanim kobasicama grupe C2 došlo do najvećeg porasta vrednosti pH od 5,00 do 5,33, dok je u kobasicama iste grupe upakovanim u vakuumu i modifikovanoj atmosferi ova vrednost 120. dana iznosila 5,26, odnosno 5,21, redom. Međutim, ovo nije bio slučaj sa kobasicama izrađenim u trećoj proizvodnoj sezoni, gde je kod većine uzoraka od 90. do 120. dana došlo do pada vrednosti pH, što je posebno bilo izraženo za proizvode upakovane u vakuumu.

#### 5.2.A.5. SADRŽAJ VLAGE

U tabeli 5.5. su prikazani rezultati dobijeni određivanjem sadržaja vlage (%) u uzorcima devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima, u tri proizvodne sezone.

U sirovom nadevu za kobasice sadržaj vlage je varirao od 54,3%, koliko je utvrđeno u ručno mešanom nadevu izrađenom u prvoj proizvodnoj sezoni (C2), do 61,6%, koliki sadržaj vode je određen u nadevu izrađenom uz dodatak starter kulture u trećoj proizvodnoj sezoni (D2, E2). Nadalje se može videti da je sadržaj vode u kobasicama na kraju procesa sušenja varirao u intervalu od 30,9%, koliko je vode utvrđeno u kobasicama D1 grupe nakon 90 dana sušenja u tradicionalnim uslovima domaćinstva, do 37,5%, koliki sadržaj vode je utvrđen u kobasicama B4 grupe, nakon 45 dana sušenja u kontrolisanim uslovima. Dalje se može uočiti da je značajno manji sadržaj vode na kraju procesa sušenja ( $P < 0,05$ ) utvrđen za sve četiri grupe kobasica izrađenih u trećoj sezoni (prosek 31,7%) u odnosu na one izrađene u drugoj (prosek 33,1%) i posebno u prvoj proizvodnoj sezoni (prosek 34,4%). Tako je sadržaj vode u kobasicama D1 (30,9%) i D2 (31,4%) grupe bio značajno manji ( $P < 0,05$ ) od sadržaja vode u kobasicama A2 (32,7%) i B2 (33,1%) grupe, iako su u oba slučaja kobasice sušene 90 dana u tradicionalnim uslovima. Takođe, značajno manji sadržaj vode ( $P < 0,05$ ) je utvrđen u kobasicama grupe E1 (31,5%) u poređenju sa kobasicama grupa C2 (33,9%) i C3 (32,3%), bez obzira na činjenicu da je u oba slučaja proces sušenja obavljen za 60 dana u kontrolisanim uslovima. Kobasice E2 grupe su u isto vreme imale nešto veći sadržaj vode (32,9%) u poređenju sa kobasicama E1 grupe, sušenim na isti način.

Tabela 5.5. Prosečne vrednosti ukupnog sadržaja vlage (%) u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

Grupa	Vreme (dan)											120V	120M
	0	2	6	9	15	30	45	60	90	120			
A2	58,2 <sup>e</sup>	56,7 <sup>d</sup>	54,0 <sup>a</sup>	51,2 <sup>c</sup>	49,9 <sup>c</sup>	46,1 <sup>e</sup>	-	38,4	32,7 <sup>b,C</sup>	27,4 <sup>f,A</sup>	32,3 <sup>f,B</sup>	33,9 <sup>a,D</sup>	
	± 0,07	± 0,12	± 0,13	± 0,16	± 0,13	± 0,18	-	± 0,43	± 0,09	± 0,27	± 0,03	± 0,13	
B2	60,6 <sup>b</sup>	57,8 <sup>f</sup>	56,0 <sup>d</sup>	55,7 <sup>d</sup>	53,7 <sup>d</sup>	47,4 <sup>c</sup>	-	40,4	33,1 <sup>c,B</sup>	32,8 <sup>g,A</sup>	32,5 <sup>g,A</sup>	34,1 <sup>a,C</sup>	
	± 0,41	± 0,33	± 0,51	± 0,24	± 0,23	± 0,11	-	± 0,47	± 0,10	± 0,20	± 0,09	± 0,09	
B4	60,6 <sup>b</sup>	57,4 <sup>c</sup>	54,0 <sup>a</sup>	50,6 <sup>a</sup>	48,4 <sup>a</sup>	39,6 <sup>d</sup>	37,5 <sup>g,E</sup>	-	24,8 <sup>B</sup>	21,2 <sup>c,A</sup>	36,0 <sup>i,D</sup>	35,0 <sup>d,C</sup>	
	± 0,41	± 0,08	± 0,07	± 0,74	± 0,13	± 0,35	± 0,09	-	± 0,27	± 0,15	± 0,15	± 0,06	
C2	54,3 <sup>c</sup>	54,1 <sup>b</sup>	53,1 <sup>c</sup>	50,2 <sup>a</sup>	48,6 <sup>a</sup>	41,1 <sup>ab</sup>	-	33,9 <sup>f,A</sup>	-	24,2 <sup>b,B</sup>	33,8 <sup>h,A</sup>	33,5 <sup>c,C</sup>	
	± 0,04	± 0,06	± 0,08	± 0,32	± 0,18	± 0,05	-	± 0,23	-	± 0,10	± 0,07	± 0,12	
C3	55,6 <sup>d</sup>	54,8 <sup>c</sup>	51,7 <sup>b</sup>	50,6 <sup>a</sup>	48,2 <sup>a</sup>	41,2 <sup>b</sup>	-	32,3 <sup>e,A</sup>	27,7 <sup>C</sup>	24,1 <sup>b,B</sup>	32,1 <sup>e,A</sup>	32,4 <sup>b,A</sup>	
	± 0,01	± 0,02	± 0,26	± 0,02	± 0,47	± 0,31	-	± 0,10	± 0,56	± 0,11	± 0,01	± 0,15	
D1	61,2 <sup>a</sup>	61,1 <sup>h</sup>	60,4 <sup>h</sup>	56,8 <sup>f</sup>	54,6 <sup>e</sup>	47,5 <sup>c</sup>	-	35,8	30,9 <sup>d,C</sup>	23,5 <sup>a,A</sup>	30,0 <sup>b,B</sup>	-	
	± 0,19	± 0,25	± 0,20	± 0,07	± 0,19	± 0,51	-	± 0,18	± 0,09	± 0,04	± 0,06	-	
D2	61,6 <sup>a</sup>	60,4 <sup>a</sup>	59,5 <sup>g</sup>	56,3 <sup>e</sup>	55,1 <sup>f</sup>	48,0 <sup>f</sup>	-	36,4	31,4 <sup>a,C</sup>	23,5 <sup>a,A</sup>	30,4 <sup>c,B</sup>	-	
	± 0,17	± 0,17	± 0,29	± 0,02	± 0,02	± 0,04	-	± 0,49	± 0,08	± 0,09	± 0,01	-	
E1	61,2 <sup>a</sup>	59,5 <sup>g</sup>	57,8 <sup>f</sup>	52,9 <sup>b</sup>	49,1 <sup>b</sup>	40,7 <sup>a</sup>	-	31,5 <sup>a,C</sup>	24,9 <sup>B</sup>	20,6 <sup>d,A</sup>	31,9 <sup>d,D</sup>	-	
	± 0,19	± 0,15	± 0,10	± 0,15	± 0,08	± 0,03	-	± 0,24	± 0,11	± 0,12	± 0,12	-	
E2	61,6 <sup>a</sup>	60,3 <sup>a</sup>	56,5 <sup>e</sup>	52,8 <sup>b</sup>	49,3 <sup>b</sup>	41,0 <sup>ab</sup>	-	32,9 <sup>bc,D</sup>	24,3 <sup>B</sup>	19,8 <sup>c,A</sup>	29,6 <sup>a,C</sup>	-	
	± 0,17	± 0,14	± 0,10	± 0,02	± 0,04	± 0,01	-	± 0,01	± 0,14	± 0,03	± 0,09	-	

<sup>a-f</sup> - vrednosti sadržaja vlage označene različitim malim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ) između izrađenih grupa kobasica tokom prvog meseca proizvodnje (0–30. dana), na kraju procesa sušenja (45, 60. i 90. dana), kao i na kraju procesa proizvodnje (120. dana).

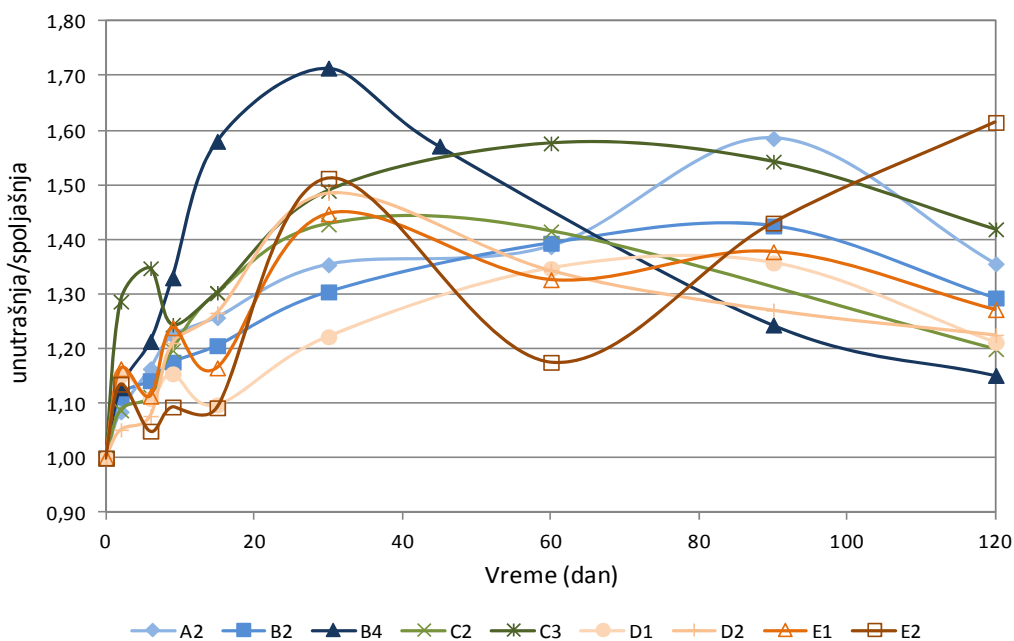
<sup>A-D</sup> - vrednosti sadržaja vlage označene različitim velikim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ), u okviru iste grupe, od kraja procesa sušenja (45, 60. i 90. dana) do kraja procesa proizvodnje (120. dana).

U tabeli je sivom bojom posebno označen kraj perioda sušenja za svaku izrađenu grupu kobasica.

V, M – kobasice koje su nakon završetka perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) i u modifikovanoj atmosferi (M) radi zrenja do 120. dana.

Iz rezultata prikazanih u tabeli 5.5. se dalje može videti da je statistički značajno ( $P < 0,05$ ) najmanji sadržaj vode na kraju procesa proizvodnje (120. dan) utvrđen u kobasicama E2 grupe, gde je ova vrednost iznosila 19,8%, dok je u isto vreme najveća vrednost ovog pokazatelja, registrovana u kobasicama B2 grupe, iznosila 32,8%. Dakle, u zavisnosti od načina sušenja, sadržaj vode u kobasicama devet izrađenih grupa je značajno varirao ( $P < 0,05$ ) u širokom intervalu od čak 13%. Kako bi se ta pojava sprečila, kobasice su na kraju procesa sušenja upakovane u vakuumu i modifikovanoj atmosferi, te je sadržaj vode u tim uzorcima 120. dan bio vrlo sličan onom utvrđenom neposredno pre pakovanja.

Na grafiku 5.10. su prikazane promene odnosa sadržaja vlage u unutrašnjoj i spoljašnjoj frakciji devet izrađenih grupa kobasica tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja do 120. dana u tradicionalnim i industrijskim uslovima, u tri proizvodne sezone. Takođe, na graficima 5.11. i 5.12. su prikazane promene posmatranog odnosa devet izrađenih grupa kobasica od momenta pakovanja u vakuumu ili modifikovanoj atmosferi do 120. dana.

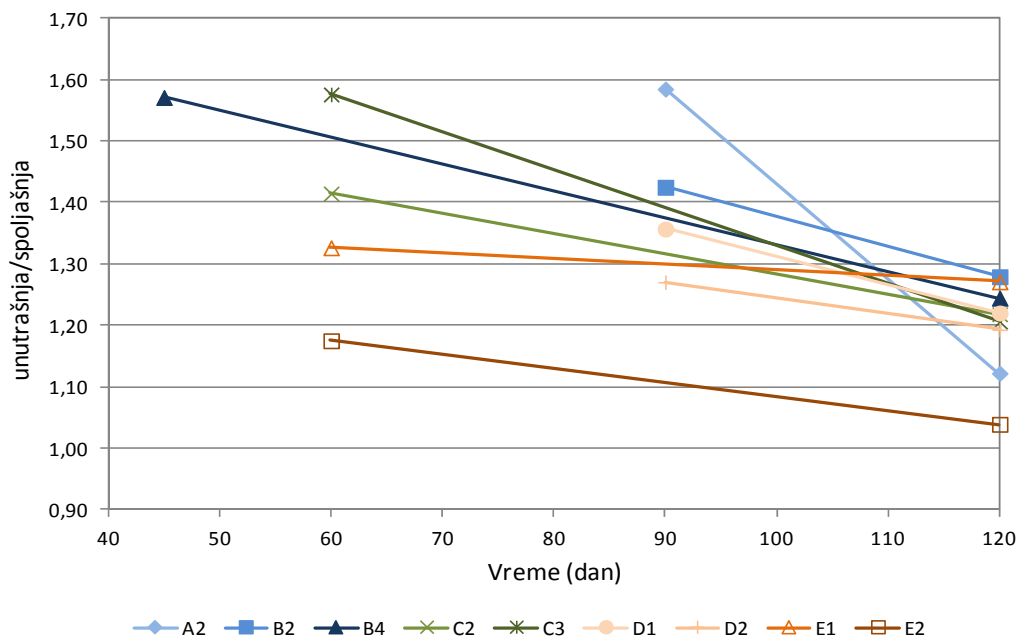


Grafik 5.10. Promene odnosa sadržaja vlage u unutrašnjoj i spoljašnjoj frakciji devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

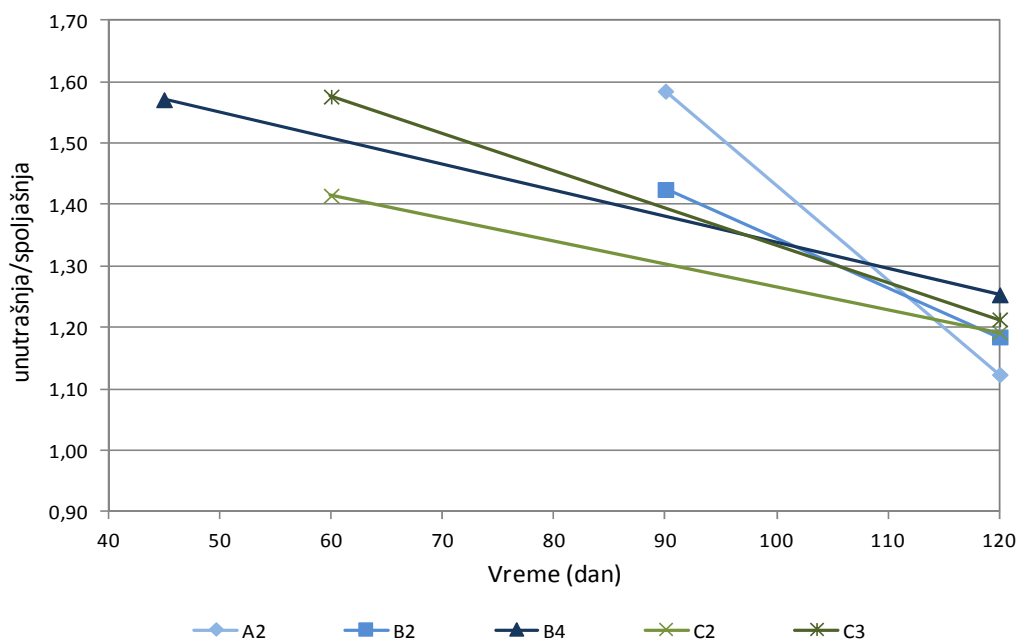
Kako se na grafiku 5.10. može videti, vrednost odnosa sadržaja vode između frakcija je uvek bila veća od 1, što znači da je sadržaj vode tokom čitavog perioda sušenja bio veći u unutrašnjim frakcijama kobasica svih 9 grupa. Ovo je posebno bilo izraženo kod kobasica B4 grupe tokom prvih 30 dana sušenja, kada je odnos sadržaja vode dostigao najveću vrednost (1,71), da bi u narednom periodu opao do vrednosti 1,15, koliko je registrovano 120. dana proizvodnje. Vrednost ovog odnosa je za druge dve grupe izrađene u istoj sezoni (A2 i B2) rasla mnogo sporije, do vrednosti 1,58, odnosno 1,43, postignute 90. dana, a zatim je počela da opada. Kada se pogleda promena odnosa sadržaja vlage u frakcijama kobasica izrađenih u drugoj proizvodnoj sezoni uočava se intenzivniji porast posmatranog pokazatelja u odnosu na tradicionalno sušene kobasice A2 i B2 grupe. Ova pojava je posebno bila izražena u kobasicama C3 grupe, gde je ovaj odnos do 6. dana proizvodnje (dimljenje) naglo porastao do vrednosti 1,35, da bi zatim delimično opao, te opet počeo da raste dostižući svoj maksimum (1,58) 60. dana proizvodnje. Kod kobasica izrađenih u trećoj proizvodnoj sezoni može se uočiti značajno variranje vrednosti odnosa sadržaja vlage u frakcijama. Ova pojava je posebno bila izražena za kobasice E2 grupe, gde je od 15. do 30. dana registrovan značajan porast posmatranog pokazatelja do vrednosti 1,51. Zatim je u narednih 30 dana registrovan pad posmatranog odnosa do vrednosti 1,18, te ponovni rast do 120. dana kada je vrednost odnosa sadržaja vlage u frakcijama kobasica ove grupe dostigla najveću vrednost (1,61).

Kako se iz rezultata prikazanih na graficima 5.11. i 5.12. može videti, vrednosti odnosa sadržaja vlage u frakcijama kobasica svih izrađenih grupa su tokom vremenskog perioda od momenta pakovanja do 120. dana proizvodnje značajno opale. Tako je vrednost pomenutog odnosa u kobasicama upakovanim u vakuumu, izrađenim u prvoj sezoni, u proseku opala za 0,31 jedinicu, u drugoj sezoni za 0,28 i u trećoj sezoni za svega 0,10 jedinicu. Kada su u pitanju kobasice upakovane u modifikovanoj atmosferi, može se uočiti da je pad vrednosti posmatranog odnosa sadržaja vlage u ovim uzorcima bio sličan onom utvrđenom za kobasice upakovane u vakuumu. Visina pada pomenutog odnosa u kobasicama upakovanim u modifikovanoj atmosferi je u prvoj proizvodnoj sezoni prosečno iznosila 0,34 jedinice, dok je u drugoj sezoni ta vrednost iznosila 0,29 jedinica. Na kraju procesa proizvodnje (120. dan), bez obzira na način pakovanja, vrednost odnosa sadržaja vlage u frakcijama većine izrađenih grupa kobasica je varirala u intervalu od 1,20 do 1,30.





Grafik 5.11. Promene odnosa sadržaja vlage u unutrašnjoj i spoljašnjoj frakciji devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* od momenta pakovanja u vakuumu do 120. dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima



Grafik 5.12. Promene odnosa sadržaja vlage u unutrašnjoj i spoljašnjoj frakciji pet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* od momenta pakovanja u modifikovanoj atmosferi do 120. dana proizvodnje u tradicionalnim i industrijskim uslovima

### 5.2.A.6. SADRŽAJ UKUPNOG PEPELA

U tabeli 5.6. su prikazani rezultati dobijeni određivanjem sadržaja ukupnog pepela (%) u uzorcima devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima, u tri proizvodne sezone.

Kako se iz prikazanih rezultata može videti, sadržaj pepela u sirovom nadevu za kobasice je varirao od 2,49%, koliko je utvrđeno u nadevu izrađenom uz dodatak starter kulture u trećoj proizvodnoj sezoni (D2, E2), do 2,77%, koliki sadržaj pepela je određen u nadevu izrađenom u domaćinstvu A u prvoj proizvodnoj sezoni. Nadalje se iz prikazanih rezultata može videti da je sadržaj pepela u kobasicama na kraju procesa sušenja varirao u intervalu od 3,84%, koliko je pepela utvrđeno u kobasicama C2 grupe nakon 60 dana sušenja u kontrolisanim uslovima, do 5,06%, koliki sadržaj pepela je utvrđen u kobasicama D2 grupe, nakon 90 dana sušenja u tradicionalnim uslovima domaćinstva D. Dalje se u može uočiti da je značajno manji sadržaj pepela na kraju procesa sušenja ( $P < 0,05$ ) utvrđen za obe grupe kobasica izrađenih u drugoj sezoni (prosek 3,88%), u odnosu na one izrađene u prvoj (prosek 4,36%) i posebno u trećoj proizvodnoj sezoni (prosek 4,91%). Tako je sadržaj pepela u kobasicama D1 (4,85%) i D2 (5,06%) grupe bio značajno veći ( $P < 0,05$ ) od sadržaja pepela u kobasicama A2 (4,33%) i B2 (4,20%) grupe, iako su u oba slučaja kobasice sušene 90 dana u tradicionalnim uslovima, a razlike sadržaja pepela u sirovim nadevima, od kojih su izrađene ove grupe kobasica, nisu bile značajne ( $P > 0,05$ ), osim između A2 i D2 nadeva. Takođe, značajno veći sadržaj pepela ( $P < 0,05$ ) je utvrđen u kobasicama E1 (4,85%) i E2 (4,88%) grupe, u poređenju sa kobasicama grupa C2 (3,84%) i C3 (3,92%), bez obzira na činjenicu da je u oba slučaja proces sušenja obavljen za 60 dana u kontrolisanim uslovima, a razlike u sadržaju pepela sirovih nadeva nisu bile značajne ( $P > 0,05$ ).

Iz rezultata prikazanih u tabeli 5.6. se dalje može videti da je statistički značajno ( $P < 0,05$ ) najmanji sadržaj pepela na kraju procesa proizvodnje (120. dan) utvrđen u kobasicama C1 grupe, gde je ova vrednost iznosila 4,37%, dok je u isto vreme najveća vrednost ovog pokazatelja, registrovana u kobasicama D2 grupe, iznosila 5,50%. Dakle, u zavisnosti od načina sušenja, sadržaj pepela u kobasicama je značajno varirao ( $P < 0,05$ ). Nakon pakovanja kobasica u vakuumu i modifikovanoj atmosferi zaustavljen je proces sušenja, te je i sadržaj pepela u većini tih proizvoda 120. dana bio na nivou utvrđenom pre pakovanja ( $P > 0,05$ ).

Tabela 5.6. Prosečne vrednosti sadržaja ukupnog pepela (%) u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

Grupa	Vreme (dan)										120V	120M
	0	2	6	9	15	30	45	60	90	120		
A2	2,77 <sup>b</sup>	2,80 <sup>ab</sup>	3,19 <sup>c</sup>	3,27 <sup>cd</sup>	3,34 <sup>bc</sup>	3,66 <sup>a</sup>	-	3,91	4,33 <sup>c,A</sup>	4,85 <sup>ab,B</sup>	4,43 <sup>a,A</sup>	4,43 <sup>ac,A</sup>
	± 0,08	± 0,15	± 0,19	± 0,15	± 0,05	± 0,09	-	± 0,17	± 0,12	± 0,08	± 0,09	± 0,11
B2	2,65 <sup>ab</sup>	2,74 <sup>ab</sup>	2,88 <sup>ab</sup>	2,97 <sup>ab</sup>	3,32 <sup>abc</sup>	3,64 <sup>ac</sup>	-	3,98	4,20 <sup>c,B</sup>	5,01 <sup>ab,C</sup>	4,74 <sup>d,A</sup>	4,55 <sup>a,A</sup>
	± 0,21	± 0,10	± 0,15	± 0,10	± 0,15	± 0,12	-	± 0,11	± 0,11	± 0,15	± 0,12	± 0,08
B4	2,65 <sup>ab</sup>	2,89 <sup>b</sup>	2,93 <sup>ab</sup>	3,13 <sup>bc</sup>	3,66 <sup>d</sup>	4,31 <sup>e</sup>	4,54 <sup>d,A</sup>	-	4,91 <sup>B</sup>	4,93 <sup>ab,B</sup>	4,29 <sup>a,C</sup>	4,64 <sup>a,A</sup>
	± 0,12	± 0,04	± 0,23	± 0,11	± 0,10	± 0,09	± 0,11	-	± 0,09	± 0,16	± 0,10	± 0,17
C2	2,52 <sup>a</sup>	2,62 <sup>a</sup>	2,76 <sup>a</sup>	2,65 <sup>e</sup>	2,91 <sup>e</sup>	3,36 <sup>b</sup>	-	3,84 <sup>b,A</sup>	-	4,37 <sup>d,B</sup>	4,04 <sup>b,AB</sup>	4,06 <sup>b,AB</sup>
	± 0,09	± 0,12	± 0,11	± 0,10	± 0,08	± 0,09	-	± 0,11	-	± 0,29	± 0,19	± 0,22
C3	2,54 <sup>ab</sup>	2,80 <sup>ab</sup>	2,78 <sup>a</sup>	2,85 <sup>a</sup>	3,16 <sup>a</sup>	3,39 <sup>bc</sup>	-	3,92 <sup>b,A</sup>	4,32 <sup>B</sup>	4,71 <sup>a,C</sup>	4,10 <sup>b,c,AB</sup>	4,13 <sup>bc,AB</sup>
	± 0,11	± 0,11	± 0,10	± 0,08	± 0,09	± 0,12	-	± 0,07	± 0,15	± 0,20	± 0,12	± 0,24
D1	2,60 <sup>ab</sup>	2,77 <sup>ab</sup>	2,81 <sup>a</sup>	3,19 <sup>c</sup>	3,24 <sup>ab</sup>	3,74 <sup>a</sup>	-	4,76	4,85 <sup>a,A</sup>	5,08 <sup>b,A</sup>	4,50 <sup>a,B</sup>	-
	± 0,03	± 0,17	± 0,05	± 0,13	± 0,06	± 0,10	-	± 0,06	± 0,12	± 0,14	± 0,17	-
D2	2,49 <sup>a</sup>	2,81 <sup>ab</sup>	2,92 <sup>ab</sup>	2,98 <sup>ab</sup>	3,15 <sup>a</sup>	3,55 <sup>abc</sup>	-	4,82	5,06 <sup>e,A</sup>	5,50 <sup>c,B</sup>	5,05 <sup>f,A</sup>	-
	± 0,15	± 0,08	± 0,11	± 0,04	± 0,02	± 0,08	-	± 0,01	± 0,06	± 0,10	± 0,12	-
E1	2,60 <sup>ab</sup>	2,82 <sup>ab</sup>	3,02 <sup>abc</sup>	3,41 <sup>d</sup>	3,81 <sup>d</sup>	4,02 <sup>d</sup>	-	4,85 <sup>a,A</sup>	5,33 <sup>B</sup>	5,45 <sup>c,B</sup>	4,99 <sup>ef,A</sup>	-
	± 0,03	± 0,14	± 0,04	± 0,05	± 0,07	± 0,30	-	± 0,04	± 0,08	± 0,15	± 0,16	-
E2	2,49 <sup>a</sup>	2,85 <sup>ab</sup>	3,10 <sup>bc</sup>	3,43 <sup>d</sup>	3,47 <sup>c</sup>	4,19 <sup>de</sup>	-	4,88 <sup>a,A</sup>	4,97 <sup>A</sup>	5,47 <sup>c,B</sup>	4,80 <sup>de,A</sup>	-
	± 0,15	± 0,12	± 0,16	± 0,10	± 0,17	± 0,14	-	± 0,15	± 0,11	± 0,09	± 0,13	-

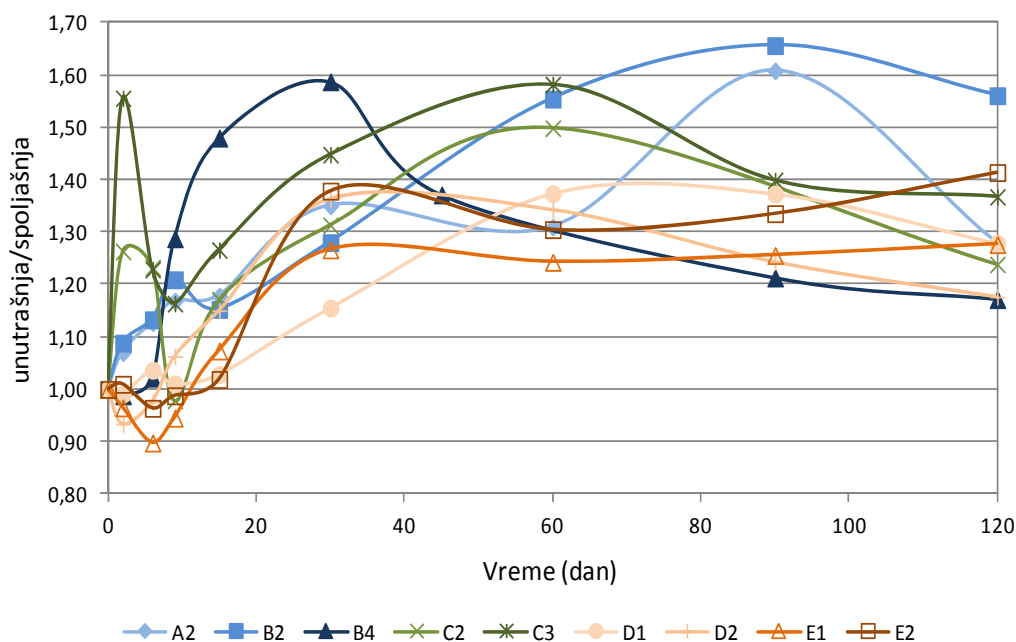
<sup>a-f</sup> - vrednosti sadržaja ukupnog pepela označene različitim malim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ) između izrađenih grupa kobasica tokom prvog meseca proizvodnje (0–30. dana), na kraju procesa sušenja (45, 60. i 90. dana), kao i na kraju procesa proizvodnje (120. dana).

<sup>A-D</sup> - vrednosti sadržaja pepela označene različitim velikim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ), u okviru iste grupe, od kraja procesa sušenja (45, 60. i 90. dana) do kraja procesa proizvodnje (120. dana).

U tabeli je sivom bojom posebno označen kraj perioda sušenja za svaku izrađenu grupu kobasica.

V, M – kobasice koje su nakon završetka perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) i u modifikovanoj atmosferi (M) radi zrenja do 120. dana.

Na grafiku 5.13. su prikazane promene odnosa sadržaja pepela u unutrašnjoj i spoljašnjoj frakciji devet izrađenih grupa kobasica tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja do 120. dana u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima, u tri proizvodne sezone. Takođe, na graficima 5.14. i 5.15. su prikazane promene posmatranog odnosa u devet izrađenih grupa kobasica od momenta pakovanja u vakuumu ili modifikovanoj atmosferi do 120. dana.



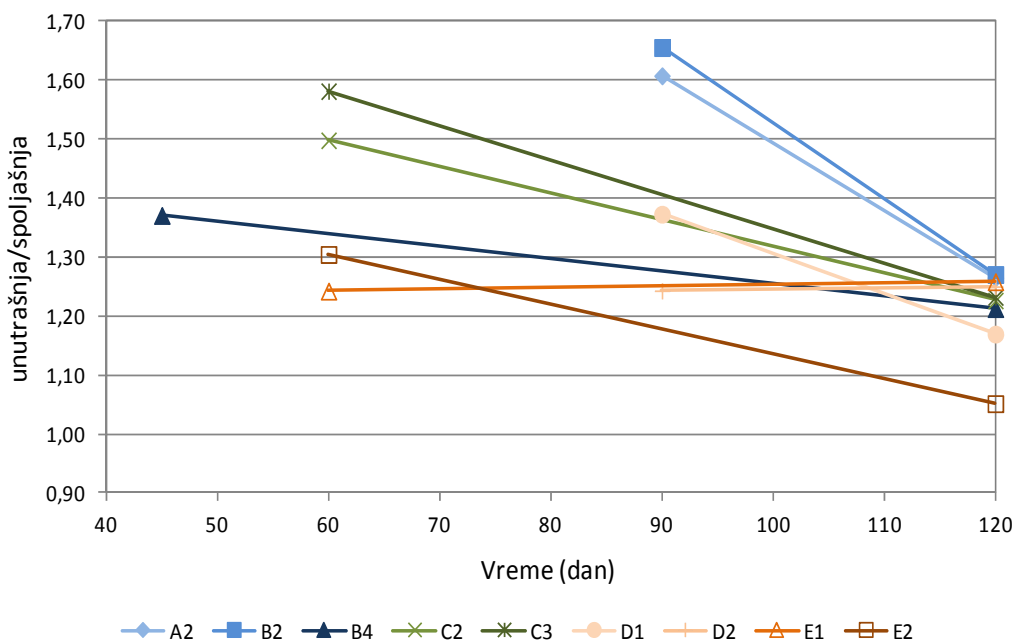
Grafik 5.13. Promene odnosa sadržaja pepela u unutrašnjoj i spoljašnjoj frakciji devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

Kao što je prethodno već napomenuto, različiti procesni parametri tokom sušenja kobasica su rezultirali različitim brzinama unutrašnje i spoljašnje difuzije vode, odnosno različitim sadržajem vode u unutrašnjoj i spoljašnjoj frakciji proizvoda, a posledično i različitim sadržajem pepela u tim koncentričnim frakcijama. Kako se na grafiku 5.13. može videti, vrednost odnosa sadržaja pepela između frakcija je tokom većeg dela perioda sušenja bila veća od 1, što znači da je sadržaj pepela dominantno bio veći u unutrašnjim frakcijama kobasica svih 9 grupa. Međutim, ovo nije bio slučaj tokom prvih nekoliko dana sušenja kobasica iz grupa B4, D1, D2, E1 i E2, kada su vrednosti pomenutog odnosa bile nešto niže od vrednosti 1. Nasuprot, odnos sadržaja pepela u frakcijama kobasica C2 i C3 grupe je već nakon dva dana sušenja dostigao značajne vrednosti od 1,26 i 1,56, redom, da bi zatim kratko

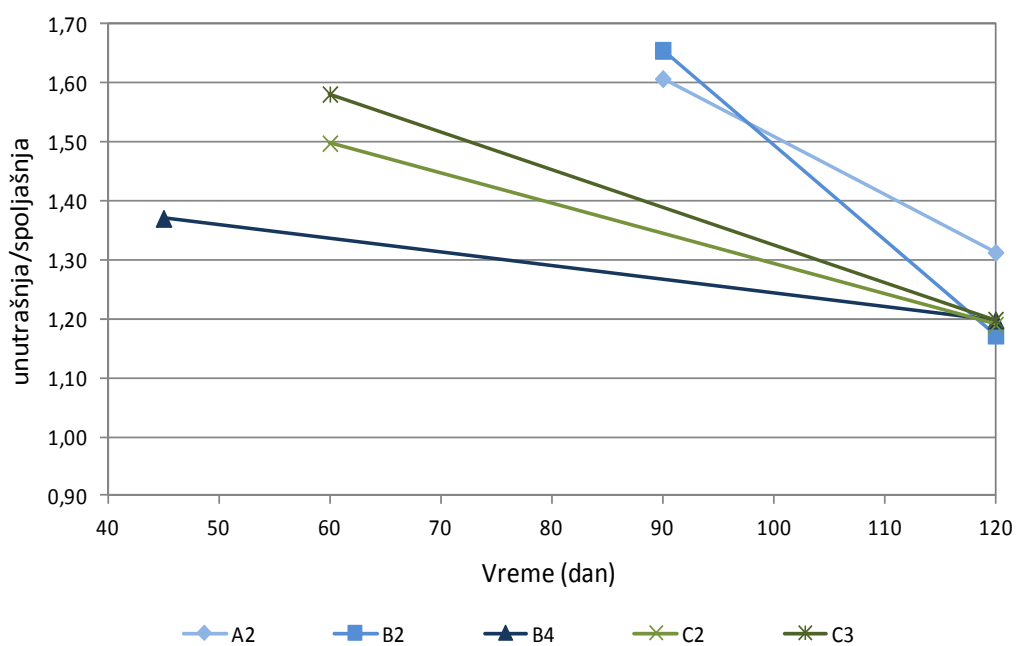
opao, te ponovo počeo da raste. Dakle, nakon početnog kolebanja, posmatrani pokazatelj je od 15. dana konstantno rastao, u svim eksperimentalnim grupama, do postizanja maksimalnih vrednosti. Ove vrednosti su u zavisnosti od modela sušenja varirale u intervalu od 1,27 (E1) do 1,66 (B2), a period sušenja u kojem su dostignute je takođe značajno varirao. Tako su maksimalne vrednosti odnosa pepela u frakcijama kobasice grupa B4 (1,59), D2 (1,36), E1 (1,27) i E2 (1,38) dostigle nakon 30 dana, grupa C2 (1,50), C3 (1,58) i D1 (1,37) nakon 60 dana, a grupa A2 (1,61) i B2 (1,66) nakon 90 dana sušenja. U narednom periodu, do 120. dana, vrednost posmatranog odnosa je padala ukazujući na lagano izjednačavanje sadržaja pepela između frakcija kobasica.

Kako se iz rezultata prikazanih na graficima 5.14. i 5.15. može videti, vrednosti odnosa sadržaja pepela u frakcijama kobasica svih izrađenih grupa, osim D2 i E1, od momenta pakovanja do 120. dana proizvodnje, su značajno opale ukazujući na izjednačavanje sadržaja pepela između unutrašnjih i spoljašnjih frakcija. Tako je vrednost pomenutog odnosa u kobasicama upakovanim u vakuumu, izrađenim u prvoj sezoni na tradicionalan način, u proseku opala za 0,36 jedinica, a onih sušenih u kontrolisanim uslovima za 0,16 jedinica. U drugoj sezoni, pad vrednosti ovog pokazatelja je za kobasice C2 i C3, upakovane u vakuumu, iznosio 0,27 i 0,36, redom, dok je u trećoj sezoni za kobasice grupe D1 i E2 prosečno iznosio 0,23. Vrednost odnosa sadržaja pepela u frakcijama kobasica D2 i E1, upakovanim u vakuumu, je 120. dana praktično bila na istom nivou, utvrđenom neposredno pre pakovanja, odnosno iznosila je 1,25 i 1,26, redom. Najmanja vrednost posmatranog odnosa je 120. dana registrovana u kobasicama E2 grupe (1,05), upakovanim u vakuumu.

Kada su u pitanju kobasice upakovane u modifikovanoj atmosferi, može se uočiti da je pad vrednosti posmatranog odnosa sadržaja pepela u ovim uzorcima bio vrlo sličan onom utvrđenom za kobasice upakovane u vakuumu. Najveća vrednost odnosa sadržaja pepela u frakcijama je 120. dana registrovana u kobasicama A2 grupe, upakovanim na ovaj način. Bez obzira na način pakovanja, utvrđene vrednosti odnosa sadržaja pepela u frakcijama većine izrađenih grupa kobasica su na kraju procesa proizvodnje (120. dan) varirale u intervalu od 1,10 do 1,30.



Grafik 5.14. Promene odnosa sadržaja pepela u unutrašnjoj i spoljašnjoj frakciji devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* od momenta pakovanja u vakuumu do 120. dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima



Grafik 5.15. Promene odnosa sadržaja pepela u unutrašnjoj i spoljašnjoj frakciji pet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* od momenta pakovanja u modifikovanoj atmosferi do 120. dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

### 5.2.A.7. REZULTATI MODELOVANJA KINETIKE SUŠENJA

U tabeli 5.7. su prikazane vrednosti koeficijenata i grešaka sedam nelinearnih matematičkih modela (Tabela 4.2) testiranih za opisivanje kinetike sušenja *Petrovačke kobasice* u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima tokom tri proizvodne sezone.

Iz rezultata prikazanih u tabeli 5.7. se vidi da su upotrebom pomenutih matematičkih modela (1-7) za aproksimaciju eksperimentalnih podataka, određenih tokom procesa sušenja kobasica grupe A2, dobijene vrednosti koeficijenta detriminacije ( $r^2$ ) varirale u intervalu od 0,9151 (1) do 0,9974 (6), dok su vrednosti korena srednje kvadratne greške ( $E_{RMS}$ ) i hi-kvadrata ( $\chi^2$ ) varirale u intervalu od  $1,23 \times 10^{-2}$  (6) do  $7,10 \times 10^{-2}$  (1), odnosno od  $2,28 \times 10^{-4}$  (6) do  $5,67 \times 10^{-3}$  (1), redom. Dalje se može videti da su aproksimacijom eksperimentalnih podataka dobijenih tokom sušenja kobasica iz grupe B2 utvrđene vrednosti  $r^2$  bile u opsegu od 0,9127 (1) do 0,9909 (2), dok su vrednosti  $E_{RMS}$  i  $\chi^2$  varirale u intervalu od  $2,28 \times 10^{-2}$  (2) do  $7,08 \times 10^{-2}$  (1), odnosno od  $6,68 \times 10^{-4}$  (2) do  $5,64 \times 10^{-3}$  (1), redom. Kada su u pitanju eksperimentalni podaci dobijeni za kobasice iz grupe B4, vrednosti posmatranih pokazatelja prihvatljivosti modela su se kretale u intervalu od 0,8340 (5) do 0,9896 (6) za  $r^2$ , od  $2,77 \times 10^{-2}$  (6) do  $1,11 \times 10^{-1}$  (5) za  $E_{RMS}$  i od  $1,15 \times 10^{-3}$  (6) do  $1,57 \times 10^{-2}$  (5) za  $\chi^2$ . Na osnovu vrednosti prikazanih u istoj tabeli dalje se može videti da su prilikom opisivanja eksperimentalnih podataka dobijenih sušenjem kobasica C2 grupe utvrđene vrednosti  $r^2$  varirale u intervalu od 0,9727 (1) do 0,9936 (4), dok su vrednosti  $E_{RMS}$  i  $\chi^2$  bile u opsegu od  $2,05 \times 10^{-2}$  (4) do  $4,25 \times 10^{-2}$  (1), odnosno od  $6,75 \times 10^{-4}$  (4) do  $2,07 \times 10^{-3}$  (1), redom. Vrednosti posmatranih pokazatelja prihvatljivosti modela za aproksimaciju eksperimentalnih podataka utvrđenih za kobasice grupe C3 su se kretale od 0,9598 (1) do 0,9986 (6) za  $r^2$ , od  $1,01 \times 10^{-2}$  (6) do  $5,42 \times 10^{-2}$  (1) za  $E_{RMS}$  i od  $1,53 \times 10^{-4}$  (6) do  $3,31 \times 10^{-3}$  (1) za  $\chi^2$ . Dalje se može videti da su aproksimacijom eksperimentalnih podataka dobijenih tokom sušenja kobasica iz grupe D1 utvrđene vrednosti  $r^2$  bile u opsegu od 0,9838 (1, 3) do 0,9932 (4), dok su vrednosti  $E_{RMS}$  i  $\chi^2$  varirale u intervalu od  $2,49 \times 10^{-2}$  (4) do  $3,85 \times 10^{-2}$  (1, 3), odnosno od  $9,33 \times 10^{-4}$  (4) do  $1,90 \times 10^{-3}$  (3), redom. Takođe, iz rezultata prikazanih u istoj tabeli može se videti da su prilikom opisivanja procesa sušenja kobasica grupe D2 utvrđene vrednosti  $r^2$  varirale od 0,9840 (5) do 0,9959 (6), dok su vrednosti  $E_{RMS}$  i  $\chi^2$  varirale u intervalu od  $1,86 \times 10^{-2}$  (6) do  $3,66 \times 10^{-2}$  (5), odnosno od  $5,19 \times 10^{-4}$  (6) do  $1,72 \times 10^{-3}$  (5), redom. Kada su eksperimentalni podaci dobijeni tokom sušenja kobasica E1 grupe aproksimirani pomoću navedenih matematičkih modela dobijene vrednosti posmatranih pokazatelja njihove

prihvatljivosti su se kretale u intervalu od 0,9345 (5) do 0,9954 (6) za  $r^2$ , od  $2,04 \times 10^{-2}$  (6) do  $7,69 \times 10^{-2}$  (5) za  $E_{RMS}$  i od  $6,24 \times 10^{-4}$  (6) do  $7,60 \times 10^{-3}$  (5) za  $\chi^2$ .

Tabela 5.7. Koeficijenti i greške testiranih matematičkih modela utvrđene regresionom analizom podataka dobijenih tokom sušenja eksperimentalnih grupa *Petrovačke kobasice*

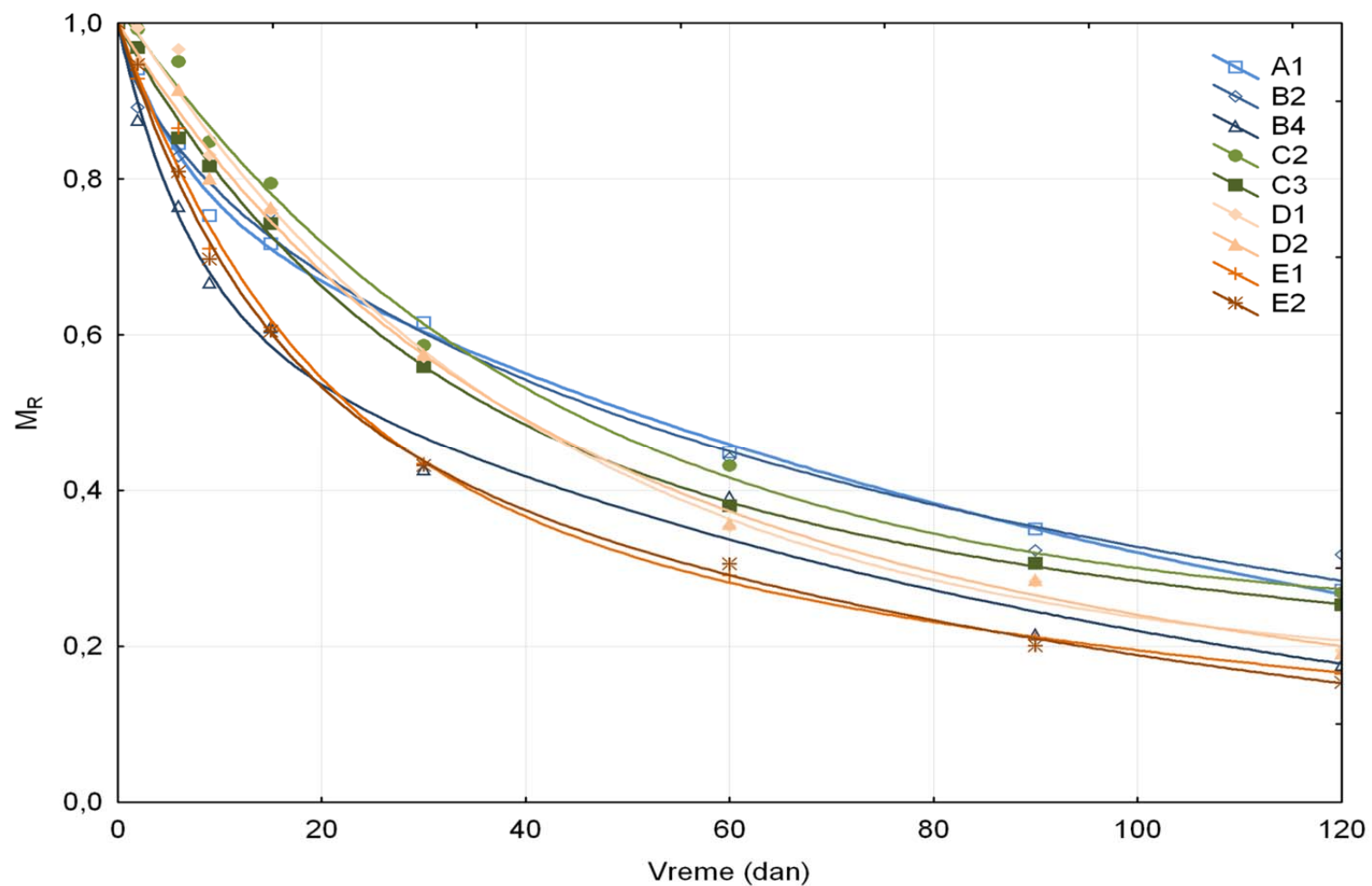
Grupa	Broj modela	Konstante	$r^2$	$E_{RMS}$	$\chi^2$
A2	1	$k = 0,0137$	0,9151	$7,10 \times 10^{-2}$	$5,67 \times 10^{-3}$
	2	$k = 0,0554, n = 0,6553$	0,9952	$1,69 \times 10^{-2}$	$3,69 \times 10^{-4}$
	3	$a = 0,9170, k = 0,0116$	0,9607	$4,83 \times 10^{-2}$	$3,00 \times 10^{-3}$
	4	$a = 0,6885, k = 0,0256, b = 0,2695$	0,9823	$3,24 \times 10^{-2}$	$1,57 \times 10^{-3}$
	5	$a = -0,0145, b = 0,0001$	0,9316	$6,37 \times 10^{-2}$	$5,22 \times 10^{-3}$
	6	$a = 0,2097, k = 0,1551, b = 0,0583$	0,9974	$1,23 \times 10^{-2}$	$2,28 \times 10^{-4}$
	7	$a = 0,1270, k = 0,0896$	0,9674	$4,09 \times 10^{-2}$	$2,15 \times 10^{-3}$
B2	1	$k = 0,0136$	0,9127	$7,08 \times 10^{-2}$	$5,64 \times 10^{-3}$
	2	$k = 0,0541, n = 0,6573$	0,9909	$2,28 \times 10^{-2}$	$6,68 \times 10^{-4}$
	3	$a = 0,9156, k = 0,0114$	0,9615	$4,70 \times 10^{-2}$	$2,84 \times 10^{-3}$
	4	$a = 0,6781, k = 0,0260, b = 0,2794$	0,9903	$2,35 \times 10^{-2}$	$8,32 \times 10^{-4}$
	5	$a = -0,0150, b = 0,0001$	0,9550	$5,08 \times 10^{-2}$	$3,32 \times 10^{-3}$
	6	$a = 0,3628, k = 0,0613, b = 0,1062$	0,9853	$2,91 \times 10^{-2}$	$1,27 \times 10^{-3}$
	7	$a = 0,1432, k = 0,0765$	0,9617	$4,69 \times 10^{-2}$	$2,83 \times 10^{-3}$
B4	1	$k = 0,0229$	0,8583	$1,02 \times 10^{-1}$	$1,17 \times 10^{-2}$
	2	$k = 0,1011, n = 0,5896$	0,9872	$3,07 \times 10^{-2}$	$1,21 \times 10^{-3}$
	3	$a = 0,8736, k = 0,0171$	0,9266	$7,35 \times 10^{-2}$	$9,64 \times 10^{-3}$
	4	$a = 0,7220, k = 0,0422, b = 0,2246$	0,9676	$4,88 \times 10^{-2}$	$3,58 \times 10^{-3}$
	5	$a = -0,0191, b = 0,0001$	0,8340	$1,11 \times 10^{-1}$	$1,57 \times 10^{-2}$
	6	$a = 0,3618, k = 0,1431, b = 0,0745$	0,9896	$2,77 \times 10^{-2}$	$1,15 \times 10^{-3}$
	7	$a = 0,1660, k = 0,1086$	0,9277	$7,29 \times 10^{-2}$	$6,83 \times 10^{-3}$
C2	1	$k = 0,0139$	0,9727	$4,25 \times 10^{-2}$	$2,07 \times 10^{-3}$
	2	$k = 0,0240, n = 0,8585$	0,9829	$3,37 \times 10^{-2}$	$1,51 \times 10^{-3}$
	3	$a = 0,9900, k = 0,0136$	0,9733	$4,20 \times 10^{-2}$	$2,36 \times 10^{-3}$
	4	$a = 0,7935, k = 0,0240, b = 0,2281$	0,9936	$2,05 \times 10^{-2}$	$6,75 \times 10^{-4}$
	5	$a = -0,0142, b = 0,0001$	0,9879	$2,67 \times 10^{-2}$	$9,14 \times 10^{-4}$
	6	$a = 0,8913, k = 0,0195, b = -0,2252$	0,9916	$2,36 \times 10^{-2}$	$8,90 \times 10^{-4}$
	7	$a = 0,2349, k = 0,0422$	0,9873	$2,90 \times 10^{-2}$	$1,12 \times 10^{-3}$
C3	1	$k = 0,0154$	0,9598	$5,42 \times 10^{-2}$	$3,31 \times 10^{-3}$
	2	$k = 0,0411, n = 0,7521$	0,9936	$2,16 \times 10^{-2}$	$5,98 \times 10^{-4}$
	3	$a = 0,9504, k = 0,0140$	0,9723	$4,50 \times 10^{-2}$	$2,61 \times 10^{-3}$
	4	$a = 0,7575, k = 0,0284, b = 0,2375$	0,9982	$1,14 \times 10^{-2}$	$1,96 \times 10^{-4}$
	5	$a = -0,0157, b = 0,0001$	0,9778	$4,03 \times 10^{-2}$	$2,08 \times 10^{-3}$
	6	$a = 0,5935, k = 0,0360, b = 0,1162$	0,9986	$1,01 \times 10^{-2}$	$1,53 \times 10^{-4}$
	7	$a = 0,1791, k = 0,0668$	0,9887	$2,16 \times 10^{-2}$	$5,97 \times 10^{-4}$



Grupa	Broj modela	Konstante	$r^2$	$E_{RMS}$	$\chi^2$
D1	1	$k = 0,0160$	0,9838	$3,85 \times 10^{-2}$	$1,66 \times 10^{-3}$
	2	$k = 0,0223, n = 0,9148$	0,9866	$3,49 \times 10^{-2}$	$1,57 \times 10^{-3}$
	3	$a = 1,0006, k = 0,0160$	0,9838	$3,85 \times 10^{-2}$	$1,90 \times 10^{-3}$
	4	$a = 0,8678, k = 0,0242, b = 0,1598$	0,9932	$2,49 \times 10^{-2}$	$9,33 \times 10^{-4}$
	5	$a = -0,0151, b = 0,0001$	0,9856	$3,62 \times 10^{-2}$	$1,69 \times 10^{-3}$
	6	$a = 0,9252, k = 0,0203, b = -0,2020$	0,9910	$2,87 \times 10^{-2}$	$1,23 \times 10^{-3}$
	7	$a = 0,3186, k = 0,0355$	0,9895	$3,05 \times 10^{-2}$	$1,20 \times 10^{-3}$
D2	1	$k = 0,0162$	0,9841	$3,65 \times 10^{-2}$	$1,50 \times 10^{-3}$
	2	$k = 0,0295, n = 0,8479$	0,9942	$2,20 \times 10^{-2}$	$6,23 \times 10^{-4}$
	3	$a = 0,9711, k = 0,0154$	0,9878	$3,20 \times 10^{-2}$	$1,32 \times 10^{-3}$
	4	$a = 0,8427, k = 0,0229, b = 0,1522$	0,9956	$1,93 \times 10^{-2}$	$5,56 \times 10^{-4}$
	5	$a = -0,0153, b = 0,0001$	0,9840	$3,66 \times 10^{-2}$	$1,72 \times 10^{-3}$
	6	$a = 0,5577, k = 0,0313, b = 0,2292$	0,9959	$1,86 \times 10^{-2}$	$5,19 \times 10^{-4}$
	7	$a = 0,2352, k = 0,0511$	0,9950	$2,01 \times 10^{-2}$	$5,20 \times 10^{-4}$
E1	1	$k = 0,0239$	0,9462	$6,97 \times 10^{-2}$	$5,46 \times 10^{-3}$
	2	$k = 0,0634, n = 0,7232$	0,9872	$3,39 \times 10^{-2}$	$1,48 \times 10^{-3}$
	3	$a = 0,9379, k = 0,0209$	0,9587	$6,10 \times 10^{-2}$	$4,79 \times 10^{-3}$
	4	$a = 0,8120, k = 0,0400, b = 0,1837$	0,9930	$2,50 \times 10^{-2}$	$9,41 \times 10^{-4}$
	5	$a = -0,0198, b = 0,0001$	0,9345	$7,69 \times 10^{-2}$	$7,60 \times 10^{-3}$
	6	$a = 0,5855, k = 0,0566, b = 0,1352$	0,9954	$2,04 \times 10^{-2}$	$6,24 \times 10^{-4}$
	7	$a = 0,2056, k = 0,0872$	0,9784	$3,70 \times 10^{-2}$	$1,76 \times 10^{-3}$
E2	1	$k = 0,0246$	0,9404	$7,28 \times 10^{-2}$	$5,97 \times 10^{-3}$
	2	$k = 0,0706, n = 0,6993$	0,9917	$2,71 \times 10^{-2}$	$9,43 \times 10^{-4}$
	3	$a = 0,9278, k = 0,0209$	0,9573	$6,16 \times 10^{-2}$	$4,88 \times 10^{-3}$
	4	$a = 0,8045, k = 0,0411, b = 0,1841$	0,9914	$2,76 \times 10^{-2}$	$1,14 \times 10^{-3}$
	5	$a = -0,0198, b = 0,0001$	0,9191	$8,48 \times 10^{-2}$	$9,25 \times 10^{-3}$
	6	$a = 0,4613, k = 0,0780, b = 0,1347$	0,9980	$1,32 \times 10^{-2}$	$2,62 \times 10^{-4}$
	7	$a = 0,1905, k = 0,0981$	0,9779	$3,81 \times 10^{-2}$	$1,87 \times 10^{-3}$

Na kraju, iz rezultata prikazanih u istoj tabeli može se videti da su prilikom opisivanja eksperimentalnih podataka dobijenih tokom sušenja kobasica E2 grupe utvrđene vrednosti  $r^2$  varirale u intervalu od 0,9191 (5) do 0,9980 (6), dok su vrednosti  $E_{RMS}$  i  $\chi^2$  bile u opsegu od  $1,32 \times 10^{-2}$  (6) do  $8,48 \times 10^{-2}$  (5), odnosno od  $2,62 \times 10^{-4}$  (6) do  $9,25 \times 10^{-3}$  (5), redom.

Na grafiku 5.16. su prikazane eksperimentalne i odgovarajućim modelom predviđene vrednosti sadržaja vlage za svaku izrađenu grupu *Petrovačke kobasice*.



Grafik 5.16. Eksperimentalne i odgovarajućim modelom predviđene vrednosti sadržaja vlage za svaku izrađenu grupu *Petrovačke kobasice*

## 5.2.B. REZULTATI ISPITIVANJA INTENZITETA I BRZINE ZRENJA IZRAĐENIH GRUPE *PETROVAČKE KOBASICE*

### 5.2.B.1. SADRŽAJ PROTEINA

U tabeli 5.8. su prikazani rezultati dobijeni određivanjem sadržaja proteina (%) u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima, u tri proizvodne sezone.

Kako se iz prikazanih rezultata može videti, sadržaj proteina u sirovom nadevu za kobasice je varirao od 16,9%, koliko je utvrđeno u mašinski mešanom nadevu izrađenom u drugoj proizvodnoj sezoni (C3), do 18,2%, koliki sadržaj proteina je utvrđen u nadevu izrađenom u domaćinstvu B u prvoj proizvodnoj sezoni (B2, B4). Nadalje se iz prikazanih rezultata može videti da je sadržaj proteina u kobasicama na kraju procesa sušenja značajno varirao ( $P < 0,05$ ) u intervalu od 26,6%, koliko je proteina utvrđeno u kobasicama C2 grupe, do 32,3%, koliki sadržaj proteina je utvrđen u kobasicama E1 grupe. Dalje se može uočiti da je značajno manji sadržaj proteina na kraju procesa sušenja ( $P < 0,05$ ) utvrđen za obe grupe kobasica izrađenih u drugoj sezoni (prosek 26,7%), u odnosu na one izrađene u prvoj (prosek 29,3%) i posebno u trećoj proizvodnoj sezoni (prosek 31,8%). Tako je sadržaj proteina u kobasicama D1 (31,5%) i D2 (31,6%) grupe bio značajno veći ( $P < 0,05$ ) od sadržaja proteina u kobasicama A2 (29,5%) i B2 (29,5%) grupe, iako su u oba slučaja kobasice sušene 90 dana u tradicionalnim uslovima. Takođe, značajno veći sadržaj proteina ( $P < 0,05$ ) je utvrđen u kobasicama E1 (32,3%) i E2 (31,8%) grupe, u poređenju sa kobasicama grupa C2 (26,6%) i C3 (26,9%), bez obzira na činjenicu da je u oba slučaja proces sušenja obavljen za 60 dana u kontrolisanim uslovima. Dakle, značajno veći sadržaj proteina u kobasicama izrađenim u trećoj proizvodnoj sezoni je rezultat intenzivnog procesa sušenja tokom kojeg je izdvojena veća količina vode nego što je to bio slučaj u prvoj i drugoj sezoni, te je i relativni udeo proteina u kobasicama D1, D2, E1 i E2 bio značajno veći ( $P < 0,05$ ).

Iz rezultata prikazanih u istoj tabeli dalje se može videti da je statistički značajno ( $P < 0,05$ ) najmanji sadržaj proteina na kraju procesa proizvodnje (120. dan) ponovo utvrđen u kobasicama C2 grupe, gde je ova vrednost iznosila 28,8%, dok je u isto vreme najveća vrednost ovog pokazatelja, registrovana u kobasicama E1 grupe, iznosila 37,3%.

Tabela 5.8. Prosečne vrednosti sadržaja proteina (%) u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

Grupa	Vreme (dan)											
	0	2	6	9	15	30	45	60	90	120	120V	120M
A2	18,0 <sup>b</sup>	19,4 <sup>b</sup>	20,5 <sup>e</sup>	19,2 <sup>b</sup>	21,6 <sup>a</sup>	24,6 <sup>d</sup>	-	25,9	29,5 <sup>b,A</sup>	31,4 <sup>e,B</sup>	28,1 <sup>c,A</sup>	28,2 <sup>c,A</sup>
	± 0,44	± 0,32	± 0,30	± 0,24	± 0,20	± 0,18	-	± 0,14	± 1,39	± 0,57	± 0,17	± 0,26
B2	18,2 <sup>b</sup>	19,5 <sup>b</sup>	21,5 <sup>d</sup>	20,3 <sup>a</sup>	21,7 <sup>a</sup>	23,7 <sup>c</sup>	-	24,0	29,5 <sup>b,A</sup>	32,8 <sup>f,D</sup>	31,3 <sup>e,C</sup>	30,4 <sup>e,D</sup>
	± 0,14	± 0,26	± 0,31	± 0,06	± 0,17	± 0,05	-	± 0,06	± 0,35	± 0,23	± 0,24	± 0,24
B4	18,2 <sup>b</sup>	19,6 <sup>b</sup>	21,5 <sup>d</sup>	23,3 <sup>d</sup>	24,9 <sup>c</sup>	27,4 <sup>f</sup>	29,0 <sup>b,B</sup>	-	34,2 <sup>D</sup>	35,3 <sup>a,E</sup>	28,5 <sup>d,A</sup>	29,6 <sup>d,C</sup>
	± 0,14	± 0,32	± 0,11	± 0,11	± 0,77	± 0,16	± 0,05	-	± 0,25	± 0,12	± 0,22	± 0,02
C2	17,3 <sup>a</sup>	17,9 <sup>d</sup>	18,3 <sup>a</sup>	19,1 <sup>b</sup>	20,1 <sup>d</sup>	22,9 <sup>a</sup>	-	26,6 <sup>c,A</sup>	-	28,8 <sup>c,C</sup>	27,2 <sup>a,B</sup>	26,1 <sup>a,A</sup>
	± 0,04	± 0,05	± 0,18	± 1,00	± 0,22	± 0,20	-	± 0,26	-	± 0,24	± 0,22	± 0,51
C3	16,9 <sup>c</sup>	18,4 <sup>ad</sup>	19,3 <sup>b</sup>	20,0 <sup>a</sup>	21,0 <sup>b</sup>	23,0 <sup>a</sup>	-	26,9 <sup>c,B</sup>	28,9 <sup>C</sup>	30,6 <sup>d,D</sup>	27,4 <sup>a,A</sup>	27,5 <sup>b,A</sup>
	± 0,05	± 0,74	± 0,13	± 0,31	± 0,19	± 0,30	-	± 0,19	± 0,43	± 0,16	± 0,11	± 0,33
D1	17,4 <sup>a</sup>	18,8 <sup>ac</sup>	18,3 <sup>a</sup>	20,6 <sup>a</sup>	21,3 <sup>ab</sup>	25,1 <sup>b</sup>	-	28,9	31,5 <sup>a,A</sup>	35,9 <sup>b,C</sup>	33,4 <sup>g,B</sup>	-
	± 0,17	± 0,20	± 0,18	± 0,16	± 0,16	± 0,14	-	± 0,31	± 0,18	± 0,04	± 0,15	-
D2	17,4 <sup>a</sup>	18,7 <sup>a</sup>	19,5 <sup>b</sup>	20,1 <sup>a</sup>	21,2 <sup>ab</sup>	25,0 <sup>b</sup>	-	30,0	31,6 <sup>a,A</sup>	36,3 <sup>b,C</sup>	32,9 <sup>f,B</sup>	-
	± 0,07	± 0,28	± 0,22	± 0,28	± 0,13	± 0,17	-	± 0,05	± 0,34	± 0,03	± 0,02	-
E1	17,4 <sup>a</sup>	18,8 <sup>ac</sup>	20,8 <sup>c</sup>	22,4 <sup>c</sup>	24,6 <sup>c</sup>	26,6 <sup>c</sup>	-	32,3 <sup>a,A</sup>	35,5 <sup>B</sup>	37,3 <sup>g,C</sup>	32,4 <sup>b,A</sup>	-
	± 0,17	± 0,20	± 0,18	± 0,39	± 0,27	± 0,18	-	± 0,33	± 0,43	± 0,25	± 0,11	-
E2	17,4 <sup>a</sup>	19,3 <sup>bc</sup>	20,9 <sup>c</sup>	22,4 <sup>c</sup>	23,9 <sup>e</sup>	28,0 <sup>g</sup>	-	31,8 <sup>a,B</sup>	35,3 <sup>A</sup>	35,4 <sup>a,A</sup>	32,5 <sup>b,C</sup>	-
	± 0,07	± 0,06	± 0,02	± 0,11	± 0,25	± 0,23	-	± 0,21	± 0,30	± 0,27	± 0,05	-

<sup>a - g</sup> - vrednosti sadržaja proteina označene različitim malim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ) između izrađenih grupa kobasica tokom prvog meseca proizvodnje (0–30. dana), na kraju procesa sušenja (45., 60. i 90. dana), kao i na kraju procesa proizvodnje (120. dana).

<sup>A - D</sup> - vrednosti sadržaja proteina označene različitim velikim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ), u okviru iste grupe, od kraja procesa sušenja (45, 60. i 90. dana) do kraja procesa proizvodnje (120. dana).

U tabeli je sivom bojom posebno označen kraj perioda sušenja za svaku izrađenu grupu kobasica.

V, M – kobasice koje su nakon završetka perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) i u modifikovanoj atmosferi (M) radi zrenja do 120. dana.

Dakle, u zavisnosti od načina sušenja, te sadržaja vlage, sadržaj proteina u kobasicama je značajno varirao ( $P < 0,05$ ). Nakon pakovanja kobasica u vakuumu i modifikovanoj atmosferi zaustavljen je proces sušenja, te je i sadržaj proteina u većini tih proizvoda 120. dana bio na nivou utvrđenom neposredno pre pakovanja.

### 5.2.B.2. SADRŽAJ NEPROTEINSKOG AZOTA (NPN)

U tabeli 5.9. su prikazani rezultati dobijeni određivanjem sadržaja neproteinskog azota (g/100g sm) u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima, u tri proizvodne sezone.

Kako se iz prikazanih rezultata može videti, sadržaj NPN-a u sirovom nadevu za kobasice je značajno varirao ( $P < 0,05$ ) od vrednosti 0,58 g/100g sm, utvrđene u ručno mešanom nadevu izrađenom u drugoj proizvodnoj sezoni (C2), do 0,71 g/100g sm, koliko je neproteinskog azota utvrđeno u nadevu izrađenom u domaćinstvu B u prvoj proizvodnoj sezoni (B2, B4). Nadalje se iz prikazanih rezultata može videti da je sadržaj NPN-a u kobasicama svih eksperimentalnih grupa rastao tokom procesa proizvodnje, da bi na kraju procesa sušenja značajno varirao ( $P < 0,05$ ) od minimalne vrednosti 0,97 g/100g sm, koja je ponovo utvrđena u kobasicama C2 grupe, do maksimalne vrednosti 1,17 g/100g sm, koliki sadržaj neproteinskog azota je utvrđen u kobasicama D1 grupe. Dalje se može uočiti da je značajno manji sadržaj NPN-a na kraju procesa sušenja ( $P < 0,05$ ) utvrđen za obe grupe kobasica izrađenih u drugoj sezoni (prosek 0,98 g/100g sm), u odnosu na one izrađene u prvoj (prosek 1,05 g/100g sm) i posebno u trećoj proizvodnoj sezoni (prosek 1,14 g/100g sm). Tako je sadržaj neproteinskog azota u kobasicama D1 (1,17 g/100g sm) i D2 (1,15 g/100g sm) grupe bio značajno veći ( $P < 0,05$ ) od sadržaja NPN-a u kobasicama A2 (1,05 g/100g sm) i B2 (1,05 g/100g sm) grupe, iako su u oba slučaja kobasice sušene 90 dana u tradicionalnim uslovima. Takođe, značajno veći sadržaj neproteinskog azota ( $P < 0,05$ ) je utvrđen u kobasicama E1 (1,13 g/100g sm) i E2 (1,09 g/100g sm) grupe, u poređenju sa kobasicama grupa C2 (0,97 g/100g sm) i C3 (0,99 g/100g sm), bez obzira na činjenicu da je u oba slučaja proces sušenja obavljen za 60 dana u kontrolisanim uslovima.

Iz rezultata prikazanih u istoj tabeli dalje se može videti da je sadržaj neproteinskog azota u većini eksperimentalnih kobasica statistički značajno porastao ( $P < 0,05$ ) od kraja procesa sušenja do 120. dana. Najmanji sadržaj NPN-a na kraju procesa proizvodnje (120. dan) je utvrđen u kobasicama A2 grupe (1,04 g/100g sm), dok je najveća vrednost ovog pokazatelja, registrovana u kobasicama D1 grupe (1,21 g/100g sm).

Tabela 5.9. Prosečne vrednosti sadržaja neproteinskog azota (g/100g sm) u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

Grupa	Vreme (dan)											
	0	2	6	9	15	30	45	60	90	120	120V	120M
A2	0,66 <sup>d</sup>	0,69 <sup>a</sup>	0,70 <sup>a</sup>	0,79 <sup>ac</sup>	0,82 <sup>bc</sup>	0,85 <sup>a</sup>	-	0,90	1,05 <sup>a,A</sup>	1,04 <sup>f,A</sup>	1,04 <sup>f,A</sup>	1,09 <sup>a,B</sup>
	± 0,02	± 0,01	± 0,02	± 0,02	± 0,01	± 0,02	-	± 0,01	± 0,00	± 0,01	± 0,00	± 0,01
B2	0,71 <sup>c</sup>	0,71 <sup>a</sup>	0,75 <sup>bc</sup>	0,81 <sup>a</sup>	0,83 <sup>b</sup>	0,87 <sup>b</sup>	-	1,01	1,05 <sup>a,B</sup>	1,17 <sup>cd,A</sup>	1,18 <sup>b,A</sup>	1,19 <sup>e,A</sup>
	± 0,01	± 0,02	± 0,03	± 0,02	± 0,01	± 0,01	-	± 0,02	± 0,01	± 0,02	± 0,00	± 0,01
B4	0,71 <sup>c</sup>	0,71 <sup>a</sup>	0,77 <sup>c</sup>	0,79 <sup>a</sup>	0,83 <sup>b</sup>	1,05 <sup>g</sup>	1,04 <sup>a,B</sup>	-	1,01 <sup>A</sup>	1,08 <sup>ab,C</sup>	1,30 <sup>c,E</sup>	1,13 <sup>b,D</sup>
	± 0,01	± 0,02	± 0,01	± 0,02	± 0,02	± 0,00	± 0,01	-	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01
C2	0,58 <sup>b</sup>	0,62 <sup>b</sup>	0,65 <sup>e</sup>	0,66 <sup>d</sup>	0,73 <sup>e</sup>	0,82 <sup>d</sup>	-	0,97 <sup>b,B</sup>	-	1,07 <sup>a,C</sup>	1,16 <sup>ab,A</sup>	1,16 <sup>d,A</sup>
	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	-	± 0,01	-	± 0,00	± 0,00	± 0,00
C3	0,61 <sup>ab</sup>	0,62 <sup>b</sup>	0,69 <sup>a</sup>	0,69 <sup>e</sup>	0,78 <sup>a</sup>	0,89 <sup>e</sup>	-	0,99 <sup>c,B</sup>	1,01 <sup>C</sup>	1,09 <sup>b,D</sup>	1,14 <sup>a,A</sup>	1,14 <sup>c,A</sup>
	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,01	± 0,01	± 0,00	-	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00
D1	0,63 <sup>a</sup>	0,64 <sup>b</sup>	0,80 <sup>d</sup>	0,76 <sup>bc</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,86 <sup>ab</sup>	-	1,06	1,17 <sup>g,A</sup>	1,21 <sup>g,B</sup>	1,42 <sup>g,C</sup>	-
	± 0,01	± 0,02	± 0,02	± 0,02	± 0,05	± 0,02	-	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	-
D2	0,63 <sup>a</sup>	0,74 <sup>c</sup>	0,72 <sup>ab</sup>	0,74 <sup>b</sup>	0,79 <sup>ac</sup>	0,97 <sup>c</sup>	-	1,14	1,15 <sup>f,A</sup>	1,19 <sup>e,B</sup>	1,33 <sup>de,C</sup>	-
	± 0,01	± 0,02	± 0,02	± 0,02	± 0,01	± 0,01	-	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	-
E1	0,63 <sup>a</sup>	0,69 <sup>a</sup>	0,81 <sup>d</sup>	0,81 <sup>a</sup>	0,92 <sup>d</sup>	0,98 <sup>c</sup>	-	1,13 <sup>e,A</sup>	1,10 <sup>A</sup>	1,19 <sup>de,B</sup>	1,34 <sup>e,C</sup>	-
	± 0,01	± 0,01	± 0,02	± 0,01	± 0,02	± 0,01	-	± 0,00	± 0,01	± 0,01	± 0,04	-
E2	0,63 <sup>a</sup>	0,70 <sup>a</sup>	0,85 <sup>f</sup>	0,87 <sup>f</sup>	0,89 <sup>d</sup>	0,93 <sup>f</sup>	-	1,09 <sup>d,B</sup>	1,06 <sup>A</sup>	1,16 <sup>c,C</sup>	1,31 <sup>cd,D</sup>	-
	± 0,01	± 0,01	± 0,02	± 0,02	± 0,01	± 0,01	-	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	-

<sup>a - g</sup> - vrednosti sadržaja neproteinskog azota označene različitim malim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ) između izrađenih grupa kobasica tokom prvog meseca proizvodnje (0–30. dana), na kraju procesa sušenja (45, 60. i 90. dana), kao i na kraju procesa proizvodnje (120. dana).

<sup>A - D</sup> - vrednosti sadržaja neproteinskog azota označene različitim velikim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ), u okviru iste grupe, od kraja procesa sušenja (45, 60. i 90. dana) do kraja procesa proizvodnje (120. dana).

U tabeli je sivom bojom posebno označen kraj perioda sušenja za svaku izrađenu grupu kobasica.

V, M – kobasice koje su nakon završetka perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) i u modifikovanoj atmosferi (M) radi zrenja do 120. dana.

Po završetku procesa sušenja kobasice su upakovane u vakuumu ili modifikovanoj atmosferi, te je zaustavljeno dalje isparavanje vode. Međutim, proces zrenja (proteolize) je nastavljen što se vidi iz vrednosti posmatranog pokazatelja u upakovanim kobasicama 120. dana, koje su za većinu eksperimentalnih grupa bile statistički značajno veće ( $P < 0,05$ ) od onih utvrđenih u momentu pakovanja. Takođe, 120. dana su utvrđene i statistički značajno veće vrednosti sadržaja neproteinskog azota u upakovanim kobasicama u odnosu na neupakovane. Tako su vrednosti ovog pokazatelja, u kobasicama upakovanim u vakuumu, varirale od 1,04 g/100g sm (A2) do 1,42 g/100g sm (D1), a u onim upakovanim u modifikovanoj atmosferi od 1,09 g/100g sm (A2) do 1,19 g/100g sm (B2).

### 5.2.B.3. INDEKS PROTEOLIZE (IP)

U tabeli 5.10. su prikazani rezultati dobijeni određivanjem indeksa proteolize u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima, u tri proizvodne sezone.

Kako se iz prikazanih rezultata može videti, indeks proteolize je u sirovom nadevu za kobasice značajno varirao ( $P < 0,05$ ) od vrednosti 8,67%, utvrđene u nadevu izrađenom u trećoj proizvodnoj sezoni (D i E), do 9,93%, kolika vrednost ovog pokazatelja je utvrđena u mašinski mešanom nadevu izrađenom u drugoj proizvodnoj sezoni (C3). Nadalje se iz prikazanih rezultata može videti da je indeks proteolize u kobasicama svih eksperimentalnih grupa rastao tokom procesa proizvodnje, kako je rastao sadržaj neproteinskog azota u kobasicama. Vrednost posmatranog pokazatelja je na kraju procesa sušenja značajno varirala ( $P < 0,05$ ) u intervalu od 13,9% (B4) do 16,1% (D1). U periodu od kraja procesa sušenja do 120. dana indeks proteolize je dodatno narastao, te je minimalna vrednost ovog pokazatelja zrenja, utvrđena u grupama A2, B2 i B4, iznosila 15,0%, dok je maksimalna vrednost u tom momentu, utvrđena u kobasicama grupe C2, iznosila 17,7%.

Kada se posmatraju vrednosti indeksa proteolize u kobasicama koje su nakon završenog procesa sušenja upakovane u vakuumu ili modifikovanoj atmosferi, može se primetiti da su značajno veće od onih utvrđenih neposredno pre pakovanja, ali i od onih utvrđenih u neupakovanim kobasicama 120. dana proizvodnje. Tako je vrednost ovog pokazatelja u kobasicama D1 grupe upakovanim u vakuumu značajno porasla ( $P < 0,05$ ) od momenta pakovanja (16,1%) do 120. dana (18,6%) za čak 2,5%, što je bila i ukupno najveća vrednost IP u upakovanim kobasicama, dok je u neupakovanim kobasicama ove grupe porasla za svega 0,1%.

Tabela 5.10. Prosečne vrednosti indeksa proteolize (%) u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

Grupa	Vreme (dan)											120V	120M
	0	2	6	9	15	30	45	60	90	120			
A2	9,63 <sup>a</sup>	9,59 <sup>ab</sup>	9,86 <sup>ab</sup>	12,5 <sup>c</sup>	11,8 <sup>a</sup>	11,6 <sup>e</sup>	-	13,3	15,0 <sup>a,A</sup>	15,0 <sup>a,A</sup>	15,6 <sup>b,AB</sup>	15,9 <sup>b,B</sup>	
	± 0,49	± 0,06	± 0,39	± 0,20	± 0,17	± 0,21	-	± 0,15	± 0,67	± 0,33	± 0,06	± 0,11	
B2	9,61 <sup>a</sup>	9,55 <sup>ab</sup>	9,61 <sup>a</sup>	11,1 <sup>cd</sup>	11,1 <sup>d</sup>	12,1 <sup>a</sup>	-	15,7	14,9 <sup>a,A</sup>	15,0 <sup>a,A</sup>	15,9 <sup>b,B</sup>	16,1 <sup>c,B</sup>	
	± 0,17	± 0,32	± 0,39	± 0,29	± 0,15	± 0,16	-	± 0,26	± 0,21	± 0,21	± 0,06	± 0,09	
B4	9,61 <sup>a</sup>	9,64 <sup>ab</sup>	10,2 <sup>bc</sup>	10,5 <sup>a</sup>	10,8 <sup>cd</sup>	14,4 <sup>c</sup>	13,9 <sup>c,A</sup>	-	13,9 <sup>A</sup>	15,0 <sup>a,B</sup>	18,2 <sup>c,D</sup>	15,4 <sup>a,C</sup>	
	± 0,17	± 0,27	± 0,18	± 0,21	± 0,20	± 0,03	± 0,08	-	± 0,19	± 0,15	± 0,08	± 0,07	
C2	9,68 <sup>a</sup>	9,71 <sup>a</sup>	10,5 <sup>cd</sup>	10,8 <sup>ac</sup>	11,7 <sup>a</sup>	13,2 <sup>f</sup>	-	15,0 <sup>a,B</sup>	-	17,7 <sup>e,A</sup>	17,6 <sup>a,A</sup>	18,5 <sup>e,C</sup>	
	± 0,09	± 0,14	± 0,13	± 0,08	± 0,12	± 0,09	-	± 0,09	-	± 0,06	± 0,05	± 0,06	
C3	9,93 <sup>a</sup>	9,55 <sup>ab</sup>	10,8 <sup>de</sup>	10,7 <sup>a</sup>	12,0 <sup>a</sup>	14,3 <sup>c</sup>	-	15,6 <sup>b,A</sup>	16,4 <sup>B</sup>	16,9 <sup>d,C</sup>	17,7 <sup>a,E</sup>	17,6 <sup>d,D</sup>	
	± 0,07	± 0,06	± 0,04	± 0,12	± 0,12	± 0,07	-	± 0,07	± 0,04	± 0,04	± 0,04	± 0,03	
D1	8,67 <sup>b</sup>	8,34 <sup>d</sup>	10,8 <sup>de</sup>	10,0 <sup>b</sup>	10,2 <sup>b</sup>	11,2 <sup>d</sup>	-	14,8	16,1 <sup>b,A</sup>	16,2 <sup>c,A</sup>	18,6 <sup>d,B</sup>	-	
	± 0,19	± 0,21	± 0,33	± 0,22	± 0,60	± 0,30	-	± 0,20	± 0,16	± 0,19	± 0,09	-	
D2	8,67 <sup>b</sup>	9,75 <sup>a</sup>	9,39 <sup>a</sup>	10,1 <sup>b</sup>	10,5 <sup>bc</sup>	12,6 <sup>b</sup>	-	15,1	15,6 <sup>b,A</sup>	15,7 <sup>b,A</sup>	17,6 <sup>a,B</sup>	-	
	± 0,19	± 0,21	± 0,25	± 0,30	± 0,12	± 0,09	-	± 0,13	± 0,08	± 0,14	± 0,19	-	
E1	8,67 <sup>b</sup>	9,30 <sup>bc</sup>	10,3 <sup>bc</sup>	10,6 <sup>a</sup>	11,9 <sup>a</sup>	13,7 <sup>g</sup>	-	15,0 <sup>a,A</sup>	14,6 <sup>A</sup>	15,8 <sup>b,B</sup>	17,6 <sup>a,C</sup>	-	
	± 0,19	± 0,13	± 0,20	± 0,19	± 0,29	± 0,15	-	± 0,06	± 0,08	± 0,12	± 0,55	-	
E2	8,67 <sup>b</sup>	9,05 <sup>c</sup>	11,1 <sup>e</sup>	11,4 <sup>d</sup>	11,8 <sup>a</sup>	12,3 <sup>ab</sup>	-	14,4 <sup>d,B</sup>	13,2 <sup>A</sup>	15,7 <sup>b,C</sup>	17,7 <sup>a,D</sup>	-	
	± 0,19	± 0,17	± 0,20	± 0,22	± 0,10	± 0,15	-	± 0,12	± 0,12	± 0,17	± 0,11	-	

<sup>a - g</sup> - vrednosti indeksa proteolize označene različitim malim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ) između izrađenih grupa kobasica tokom prvog meseca proizvodnje (0–30. dana), na kraju procesa sušenja (45, 60. i 90. dana), kao i na kraju procesa proizvodnje (120. dana).

<sup>A - D</sup> - vrednosti indeksa proteolize označene različitim velikim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ), u okviru iste grupe, od kraja procesa sušenja (45, 60. i 90. dana) do kraja procesa proizvodnje (120. dana).

U tabeli je sivom bojom posebno označen kraj perioda sušenja za svaku izrađenu grupu kobasica.

V, M – kobasice koje su nakon završetka perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) i u modifikovanoj atmosferi (M) radi zrenja do 120. dana.



Istodobno, najmanja vrednost IP je utvrđena u kobasicama B4 grupe, upakovanim u modifikovanoj atmosferi (15,4%).

#### 5.2.B.4. SADRŽAJ $\alpha$ -AMINOKISELINSKOG AZOTA ( $\text{NH}_2\text{-N}$ )

U tabeli 5.11. su prikazani rezultati dobijeni određivanjem sadržaja  $\alpha$ -aminokiselinskog azota (g/100g sm) u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima, u tri proizvodne sezone.

Kako se iz prikazanih rezultata može videti, sadržaj  $\text{NH}_2\text{-N}$  u sirovom nadevu za kobasice je značajno varirao ( $P < 0,05$ ) od vrednosti 0,20 g/100g sm, utvrđene u nadevima izrađenim u drugoj proizvodnoj sezoni (C2, C3), do 0,33 g/100g sm, koliko je  $\alpha$ -aminokiselinskog azota utvrđeno u nadevu izrađenom u domaćinstvu B u prvoj proizvodnoj sezoni (B2, B4). Nadalje se iz prikazanih rezultata može videti da je sadržaj  $\text{NH}_2\text{-N}$  u kobasicama svih eksperimentalnih grupa rastao tokom procesa proizvodnje, da bi na kraju procesa sušenja značajno varirao ( $P < 0,05$ ) od minimalne vrednosti 0,37 g/100g sm, utvrđene u kobasicama C3 grupe, do maksimalne vrednosti od 0,53 g/100g sm, koliki sadržaj ovog pokazatelja proteolize je utvrđen u kobasicama D2 grupe. Dalje se može uočiti da je značajno manji sadržaj  $\text{NH}_2\text{-N}$  na kraju procesa sušenja ( $P < 0,05$ ) utvrđen za obe grupe kobasica izrađenih u drugoj sezoni (prosek 0,38 g/100g sm), u odnosu na one izrađene u prvoj (prosek 0,44 g/100g sm) i posebno u trećoj proizvodnoj sezoni (prosek 0,48 g/100g sm). Tako je sadržaj  $\alpha$ -aminokiselinskog azota u kobasicama D1 (0,48 g/100g sm) i D2 (0,53 g/100g sm) grupe bio značajno veći ( $P < 0,05$ ) od sadržaja  $\text{NH}_2\text{-N}$  u kobasicama A2 (0,47 g/100g sm) i B2 (0,45 g/100g sm) grupe, iako su u oba slučaja kobasice sušene 90 dana u tradicionalnim uslovima. Takođe, značajno veći sadržaj  $\alpha$ -aminokiselinskog azota ( $P < 0,05$ ) je utvrđen u kobasicama E1 (0,46 g/100g sm) i E2 (0,45 g/100g sm) grupe, u poređenju sa kobasicama grupa C2 (0,38 g/100g sm) i C3 (0,37 g/100g sm), bez obzira na činjenicu da je u oba slučaja proces sušenja obavljen za 60 dana u kontrolisanim uslovima.

Iz rezultata prikazanih u istoj tabeli dalje se može videti da je sadržaj  $\text{NH}_2\text{-N}$  u većini eksperimentalnih kobasica, kako upakovanih tako i neupakovanih, statistički značajno porastao ( $P < 0,05$ ) od kraja procesa sušenja do 120. dana. Takođe, 120. dana su utvrđene i statistički značajno veće vrednosti sadržaja  $\alpha$ -aminokiselinskog azota u upakovanim kobasicama u odnosu na neupakovane. Kada se posmatra sadržaj  $\text{NH}_2\text{-N}$  u različitim

Tabela 5.11. Prosečne vrednosti sadržaja  $\alpha$ -aminokiselinskog azota (g/100g sm) u devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

Grupa	Vreme (dan)											
	0	2	6	9	15	30	45	60	90	120	120V	120M
A2	0,30 <sup>d</sup>	0,34 <sup>bc</sup>	0,27 <sup>ac</sup>	0,26 <sup>a</sup>	0,28 <sup>c</sup>	0,31 <sup>b</sup>	-	0,44	0,47 <sup>d,B</sup>	0,48 <sup>b,C</sup>	0,50 <sup>b,A</sup>	0,50 <sup>a,A</sup>
	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,00	± 0,01	± 0,01	-	± 0,01	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,00
B2	0,33 <sup>c</sup>	0,33 <sup>b</sup>	0,26 <sup>c</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,28 <sup>c</sup>	0,31 <sup>b</sup>	-	0,35	0,45 <sup>a,B</sup>	0,58 <sup>c,A</sup>	0,56 <sup>a,C</sup>	0,58 <sup>b,A</sup>
	± 0,01	± 0,01	± 0,02	± 0,02	± 0,01	± 0,01	-	± 0,01	± 0,00	± 0,01	± 0,00	± 0,00
B4	0,33 <sup>c</sup>	0,35 <sup>c</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,30 <sup>ab</sup>	0,34 <sup>cd</sup>	0,41 <sup>c,A</sup>	-	0,49 <sup>B</sup>	0,54 <sup>a,C</sup>	0,65 <sup>h,E</sup>	0,61 <sup>c,D</sup>
	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	-	± 0,01	± 0,02	± 0,00	± 0,00
C2	0,20 <sup>b</sup>	0,22 <sup>e</sup>	0,20 <sup>b</sup>	0,22 <sup>b</sup>	0,29 <sup>b</sup>	0,33 <sup>c</sup>	-	0,38 <sup>b,A</sup>	-	0,55 <sup>a,B</sup>	0,65 <sup>g,C</sup>	0,67 <sup>e,D</sup>
	± 0,01	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	-	± 0,00	-	± 0,00	± 0,00	± 0,00
C3	0,20 <sup>b</sup>	0,20 <sup>d</sup>	0,19 <sup>b</sup>	0,23 <sup>b</sup>	0,31 <sup>ab</sup>	0,35 <sup>ad</sup>	-	0,37 <sup>b,A</sup>	0,40 <sup>B</sup>	0,58 <sup>c,C</sup>	0,60 <sup>e,D</sup>	0,65 <sup>d,E</sup>
	± 0,01	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,01	± 0,00	-	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00
D1	0,25 <sup>a</sup>	0,26 <sup>a</sup>	0,28 <sup>a</sup>	0,31 <sup>c</sup>	0,31 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	-	0,47	0,48 <sup>e,A</sup>	0,52 <sup>d,B</sup>	0,53 <sup>c,C</sup>	-
	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,00	± 0,01	± 0,00	-	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,00	-
D2	0,25 <sup>a</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,29 <sup>a</sup>	0,31 <sup>c</sup>	0,31 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	-	0,46	0,53 <sup>f,A</sup>	0,53 <sup>a,A</sup>	0,55 <sup>a,B</sup>	-
	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,00	± 0,00	± 0,01	-	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	-
E1	0,25 <sup>a</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,36 <sup>d</sup>	0,36 <sup>d</sup>	0,38 <sup>d</sup>	0,39 <sup>e</sup>	-	0,46 <sup>a,A</sup>	0,49 <sup>B</sup>	0,54 <sup>a,C</sup>	0,62 <sup>f,D</sup>	-
	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,00	± 0,01	± 0,01	-	± 0,00	± 0,00	± 0,00	± 0,00	-
E2	0,25 <sup>a</sup>	0,29 <sup>f</sup>	0,34 <sup>d</sup>	0,37 <sup>d</sup>	0,38 <sup>d</sup>	0,40 <sup>e</sup>	-	0,45 <sup>a,B</sup>	0,48 <sup>A</sup>	0,49 <sup>b,A</sup>	0,55 <sup>d,C</sup>	-
	± 0,01	± 0,00	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	-	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,00	-

<sup>a-f</sup> - vrednosti sadržaja  $\alpha$ -aminokiselinskog azota označene različitim malim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ) između izrađenih grupa kobasica tokom prvog meseca proizvodnje (0–30. dana), na kraju procesa sušenja (45, 60. i 90. dana), kao i na kraju procesa proizvodnje (120. dana).

<sup>A-D</sup> - vrednosti sadržaja  $\alpha$ -aminokiselinskog azota označene različitim velikim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ), u okviru iste grupe, od kraja procesa sušenja (45, 60. i 90. dana) do kraja procesa proizvodnje (120. dana).

U tabeli je sivom bojom posebno označen kraj perioda sušenja za svaku izrađenu grupu kobasica.

V, M – kobasice koje su nakon završetka perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) i u modifikovanoj atmosferi (M) radi zrenja do 120. dana

eksperimentalnim grupama na kraju procesa proizvodnje (120. dan), vidi se da je ova vrednost u neupakovanim kobasicama varirala u intervalu od 0,48 g/100g sm, koliko je utvrđeno u uzorcima A2 grupe, do 0,58 g/100g sm, kolika vrednost posmatranog pokazatelja je utvrđena u kobasicama B2 i C3 grupe. Kao što je već rečeno, sadržaj  $\alpha$ -aminokiselinskog azota u upakovanim kobasicama (bez obzira na način pakovanja) je bio nešto veći, a varirao je u intervalu od 0,50 g/100g sm, koliko je utvrđeno u kobasicama A2 grupe, do 0,67 g/100g sm, koliki sadržaj ovog pokazatelja proteolize je utvrđen u kobasicama C2 grupe upakovanim u modifikovanoj atmosferi.

#### **5.2.B.5. KVALITATIVAN I KVANTITATIVAN SASTAV EKSTRAKATA SARKOPLAZMATSKIH I MIOFIBRILARNIH PROTEINA**

Kvalitativan i kvantitativan sastav različitih proteinskih frakcija u ekstraktima sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina utvrđen tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja kobasica svih izrađenih eksperimentalnih grupa, je prikazan u tabelama 5.12 – 5.29. Primeri elektroforetograma (forma klasičnog gela) dobijenih razdvajanjem ekstrahovanih sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina kobasica A2 grupe Lab-on-a-Chip metodom, na osnovu kojih su dobijeni tabelarni rezultati, su prikazani na slikama 5.1. i 5.2, a ostalih eksperimentalnih grupa u Prilogu.

U tabeli 5.12. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstrahovanim sarkoplazmatskim proteinima kobasica A2 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim uslovima. Na osnovu prikazanih rezultata može se videti da je već iz sirovog nadeva za kobasice A2 grupe ekstrahovan veliki broj sarkoplazmatskih proteina molekularnih masa u rasponu od  $\approx 14$  kDa do  $\approx 148$  kDa. Tokom procesa proizvodnje došlo je do relevantnog porasta sadržaja polipeptida molekularne mase  $\approx 14$ , 23, 25, 58 i 62 kDa, dok je šest novih proteinskih frakcija nastalo nakon 2 ( $\approx 40$ , 99 kDa), 6 ( $\approx 115$  kDa) i 15 ( $\approx 15$ , 18, 129 kDa) dana. Dalje se može videti da je sadržaj polipeptida molekularne mase  $\approx 40$  kDa, nastalog nakon drugog dana, progresivno rastao tokom sušenja i zrenja, te je nakon 120 dana ova proteinska frakcija bila najzastupljeniji deo sarkoplazmatskih proteina ekstrahovanih kako iz neupakovanih kobasica A2 grupe (29,5%), tako i iz onih upakovanih u vakuumu (39,2%). Takođe, tokom proizvodnje je registrovana lagana degradacija polipeptida molekularne mase  $\approx 32$ , 42 i 53 kDa, koji su tek nakon 30 dana izgubili oko 50% inicijalne koncentracije, dok su proteinske grupe od  $\approx 16$ , 44 i 93 kDa potpuno

nestale u narednih 30 dana proizvodnje. Nasuprot tome, sadržaj proteinske frakcije molekulske mase  $\approx 35$  kDa je znatno smanjen ( $\approx 70\%$ ) već nakon prva dva dana proizvodnje.

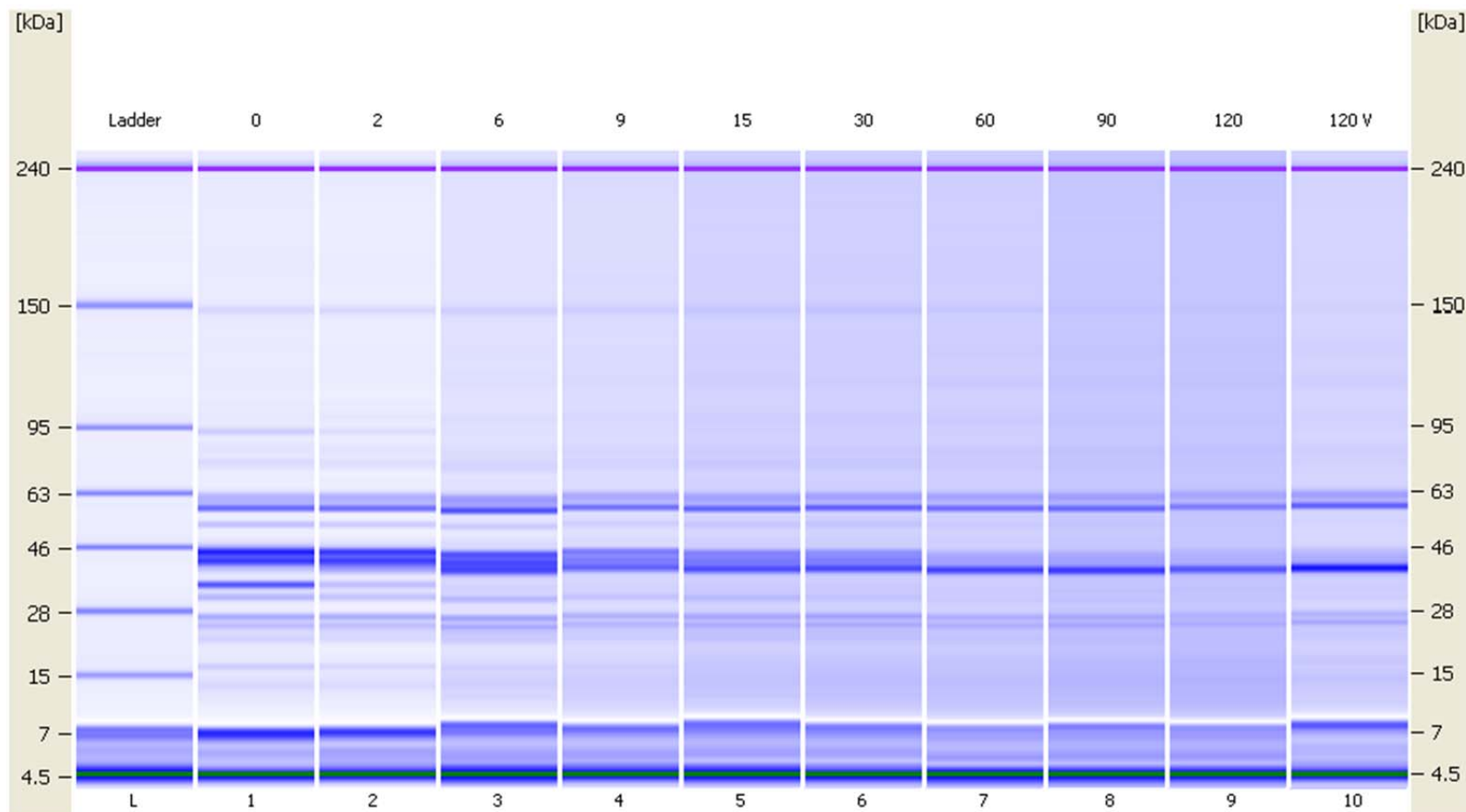
Tabela 5.12. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica A2 grupe tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	120V
13,9	2,4	2,8	4,0	5,5	4,3	5,2	5,4	5,6	3,7	1,8
14,6	-	-	-	-	1,9	2,6	2,8	3,3	9,0	4,9
16,6	2,4	1,8	2,0	2,5	2,1	2,1	-	-	-	-
17,5	-	-	-	-	1,2	1,9	3,9	5,6	9,0	3,6
22,6	1,9	1,6	2,0	2,5	2,9	2,8	3,8	3,0	4,5	3,0
25,1	4,1	5,0	5,7	5,6	5,5	5,7	5,7	6,1	5,5	6,1
26,9	5,1	5,6	5,8	5,5	5,8	6,0	5,0	5,2	4,0	4,4
31,8	3,8	3,5	4,0	3,4	3,4	1,6	0,8	0,9	0,7	0,8
34,5	13,0	3,9	1,5	1,4	0,9	1,2	1,1	1,1	1,1	1,2
40,0	-	6,8	19,0	22,2	24,2	24,1	30,7	32,5	29,5	39,2
42,1	23,0	23,1	13,9	11,7	10,7	11,4	10,9	8,3	7,5	6,8
44,3	23,3	22,1	14,9	13,3	9,7	7,7	-	-	-	-
53,1	2,2	1,9	1,3	1,0	0,9	1,0	0,6	0,5	0,3	0,1
58,3	9,7	11,0	13,2	12,5	12,9	13,3	14,2	14,4	13,2	15,0
61,6	4,9	6,5	7,8	7,6	7,5	7,0	8,0	7,6	7,1	8,1
78,1	1,1	1,1	1,5	1,5	1,6	1,5	1,3	1,0	0,5	0,7
83,2	0,6	0,7	0,7	0,8	0,9	0,9	1,0	1,2	1,0	0,9
93,1	1,6	0,9	0,2	0,1	0,2	0,1	-	-	-	-
98,8	-	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	1,1	0,8	0,6	0,6
115,2	-	-	0,4	0,6	0,7	0,7	1,3	1,3	1,3	1,4
129,4	-	-	-	-	0,5	0,5	1,1	0,8	1,0	1,0
147,9	0,9	1,3	1,6	1,7	1,5	1,9	1,3	0,8	0,5	0,4

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

U tabeli 5.13. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstrahovanim miofibrilarnim proteinima kobasica A2 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim uslovima. Kako se iz rezultata prikazanih u ovoj tabeli može videti najznačajniji miofibrilarni proteini (miozin i aktin) su pokazali različitu stabilnost tokom procesa sušenja i zrenja. Teški meromiozin (HMM,  $\approx 220$  kDa) je u visokom stepenu degradiran usled hidrolize. Već nakon 30 dana ovaj proteinski fragment je izgubio oko 50% svoje inicijalne koncentracije, te je nastavio da se razgrađuje do 120. dana kada je registrovani udeo ovog polipeptida u ekstraktu miofibrilarnih proteina neupakovanih kobasica iznosio svega 4,2%, a upakovanih 4,9%.

Slika 5.1. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica A2 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

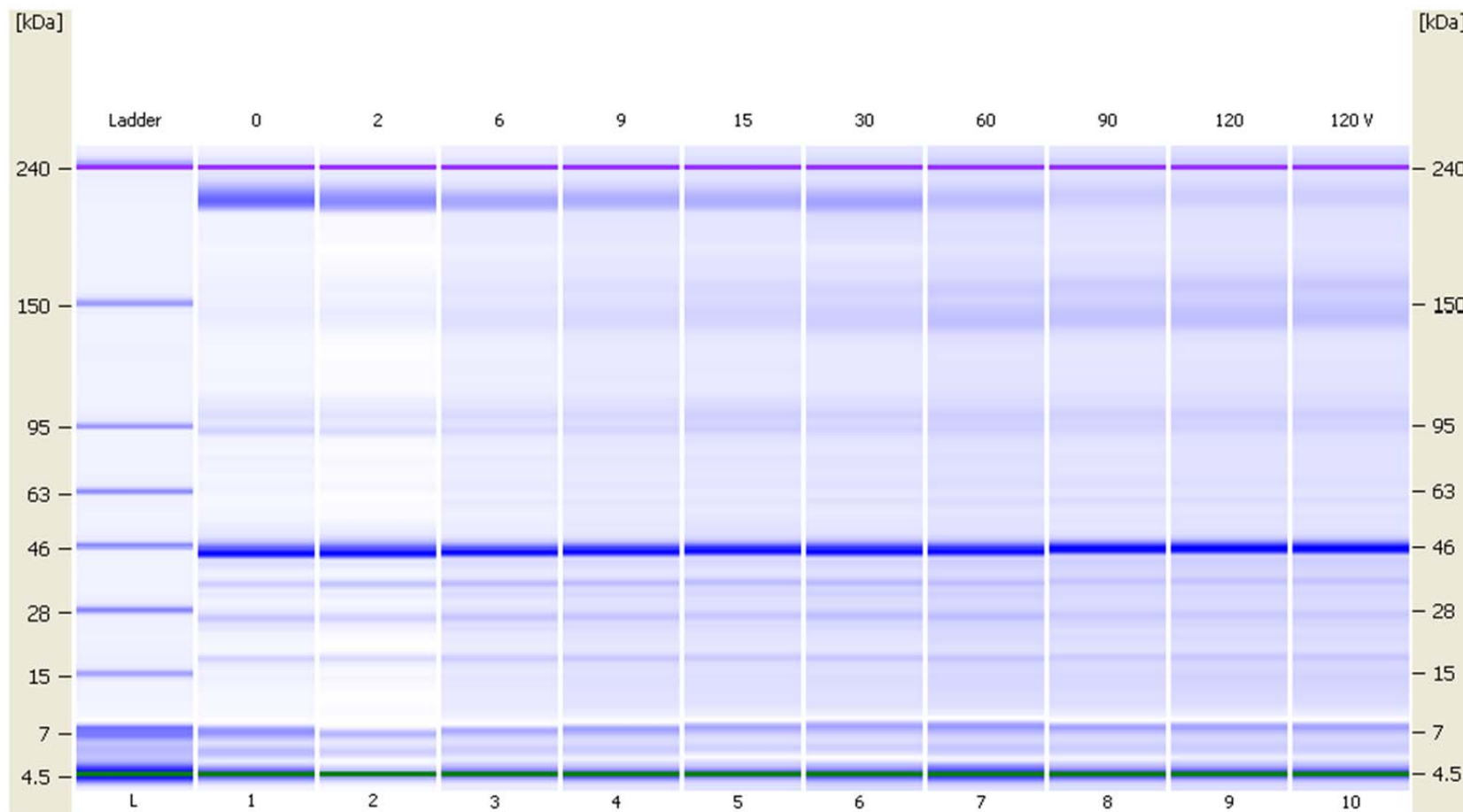
Nasuprot miozinu, proteinska frakcija molekulske mase  $\approx 45$  kDa (aktin) je ispoljila veliku stabilnost tokom procesa proizvodnje, odnosno njena koncentracija nakon 120. dana je bila praktično nepromenjena u odnosu na onu utvrđenu u ekstraktu miofibrilarnih proteina sirovog nadeva A2 (0. dan). Simultano sa razgradnjom teškog lanca miozina došlo je do relevantnog porasta koncentracija proteinskih frakcija molekulske mase  $\approx 145$  i  $160$  kDa. Takođe, registrovan je porast udela polipeptida molekulske mase  $\approx 15, 17, 18, 25, 36, 41, 66$  i  $100$  kDa, a detektovane su i neke novoformirane proteinske frakcije nakon 6 ( $\approx 60, 22$  i  $14$  kDa), odnosno 9 dana proizvodnje ( $\approx 32$  i  $173$  kDa). Dalje se može uočiti da je tokom procesa proizvodnje došlo do lagane ali konstantne degradacije frakcija molekulske mase  $\approx 27$  i  $94$  kDa, dok je frakcija molekulske mase  $\approx 75$  kDa potpuno nestala.

Tabela 5.13. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekulske mase u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica A2 grupe tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	120V
13,7	-	-	1,1	1,8	1,8	1,5	2,0	2,0	2,2	1,9
14,5	0,4	0,3	1,2	1,5	1,3	1,4	1,5	2,5	3,0	2,2
16,9	0,5	0,4	0,8	1,0	0,9	0,9	1,1	1,1	1,3	0,8
18,2	3,3	3,1	4,4	4,8	4,0	3,8	3,9	3,6	4,1	2,7
22,5	-	-	0,5	0,7	0,7	0,5	1,2	1,2	1,7	0,9
24,8	0,9	0,6	1,3	1,4	1,3	1,2	1,6	1,4	1,4	1,3
26,5	6,0	5,5	7,1	6,4	5,3	6,5	6,2	4,8	4,7	4,3
31,6	-	-	-	0,7	0,6	0,8	1,1	0,8	0,7	1,0
32,7	0,8	0,9	2,0	2,2	2,1	2,4	2,0	1,7	1,6	1,8
35,6	3,6	5,7	6,0	5,8	5,5	5,4	4,6	4,3	4,6	4,0
41,4	2,0	1,6	2,3	2,0	1,7	2,2	2,8	3,9	3,9	3,8
44,4	43,4	47,1	43,8	43,9	42,2	40,7	39,0	40,7	40,5	42,3
59,7	-	-	0,2	0,3	0,1	0,2	0,4	0,7	0,4	0,6
66,1	0,4	0,3	0,6	0,4	0,3	0,5	0,7	0,7	0,5	0,9
75,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	-	-
79,1	0,3	0,2	0,4	0,3	0,4	0,2	0,4	0,2	0,2	0,1
93,7	3,3	3,3	3,0	2,8	3,7	2,6	2,8	2,5	2,5	2,8
100,4	2,7	2,8	3,1	2,6	4,6	2,8	3,4	3,6	3,7	3,5
106,1	1,0	1,0	0,8	0,9	1,0	0,8	0,8	0,8	0,7	0,5
144,6	1,5	3,0	4,3	4,4	6,1	6,9	10,0	10,7	11,5	11,8
159,9	0,8	1,4	1,7	1,7	2,6	2,8	4,4	5,8	6,0	7,1
172,7	-	-	-	0,4	0,6	0,4	1,0	1,1	0,6	0,8
217,4	29,0	22,7	15,2	13,8	13,1	15,4	8,9	5,8	4,2	4,9

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

Slika 5.2. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica A2 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

U tabeli 5.14. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstrahovanim sarkoplazmatskim proteinima kobasica B2 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim uslovima. Na osnovu prikazanih rezultata može se videti da je već iz sirovog nadeva za kobasice B2 grupe ekstrahovan veliki broj sarkoplazmatskih proteina molekularnih masa u rasponu od  $\approx 14$  kDa do  $\approx 148$  kDa. Tokom procesa proizvodnje došlo je do relevantnog porasta sadržaja polipeptida molekularne mase  $\approx 17, 25, 27, 58, 61$  i  $99$  kDa, dok je četiri nove proteinske frakcije registrovano nakon 6 ( $\approx 15$  i  $117$  kDa), 9 ( $\approx 130$  kDa) i 15 ( $\approx 39$  kDa) dana. Dalje se može videti da je sadržaj novonastalog polipeptida molekularne mase  $\approx 39$  kDa progresivno rastao tokom sušenja i zrenja, te je nakon 120 dana ova proteinska frakcija bila najzastupljeniji deo sarkoplazmatskih proteina ekstrahovanih kako iz neupakovanih kobasica (38,1%), tako i iz onih upakovanih u vakuumu (37,0%). Takođe, tokom proizvodnje je registrovana degradacija polipeptida molekularne mase

Tabela 5.14. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica B2 grupe tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	120V
13,6	3,0	4,1	2,4	3,2	4,0	4,9	6,6	-	-	-
14,7	-	-	0,7	1,5	1,9	1,8	2,0	3,8	5,4	4,9
17,1	2,2	2,6	1,9	2,4	3,3	3,9	1,5	3,6	3,6	2,8
22,3	2,7	2,4	2,1	2,1	3,2	3,3	3,3	1,8	1,6	1,2
25,1	4,8	4,0	5,1	5,4	6,2	6,7	6,4	7,1	7,3	6,6
26,8	6,8	7,2	7,7	7,5	7,7	7,5	9,9	8,8	7,6	7,5
31,7	3,7	5,0	6,4	5,4	5,7	4,3	4,9	3,3	4,4	3,0
34,0	9,3	5,9	2,1	2,0	2,0	1,7	1,6	1,8	2,0	2,1
39,4	-	-	-	-	10,8	18,4	25	36,4	38,1	37,0
42,3	19,3	19,2	21,8	23,2	14,9	12,0	6,6	5,9	5,9	6,9
44,5	25,5	26,6	25,1	23,9	18,2	11,8	8,4	-	-	-
53,1	2,3	1,9	1,4	1,3	1,0	0,8	0,3	-	-	-
58,1	10,5	10,5	11,4	11	11,1	10,9	11,2	12,0	12,9	14,8
60,9	4,3	3,7	5,1	4,5	3,8	4,8	5,1	6,4	6,1	6,4
78,0	1,4	2,1	2,0	1,8	1,8	1,8	1,6	1,3	0,9	1,4
83,3	0,6	0,5	0,7	0,6	0,7	0,8	1,1	1,4	0,9	0,7
93,3	2,2	2,3	1,3	0,8	0,3	0,3	-	-	-	-
99,1	0,3	0,8	1,3	1,3	1,3	1,6	1,8	1,4	1,0	1,7
117,2	-	-	0,2	0,3	0,4	0,9	1,1	1,3	1,3	1,4
129,1	-	-	-	0,1	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,6
148,0	1,1	1,2	1,3	1,7	1,4	1,5	1,3	3,3	0,6	1,0

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.



≈34, 42 i 78 kDa, dok su proteinske frakcije od ≈14, 44, 53 kDa potpuno nestale nakon 90 dana, a frakcija od ≈93 kDa nije registrovana u ekstraktu već nakon dva meseca proizvodnje.

U tabeli 5.15. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstrahovanim miofibrilarnim proteinima kobasica B2 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim uslovima. Kako se iz rezultata prikazanih u ovoj tabeli može videti HMM (≈220 kDa) je u visokom stepenu degradiran tokom proizvodnje, te je već nakon 30 dana izgubio više od 60% svoje inicijalne koncentracije. Na kraju procesa proizvodnje (120. dan) registrovani udeo ovog polipeptida u ekstraktu miofibrilarnih proteina neupakovanih kobasica je iznosio svega 1,9%, a upakovanih 3,7%.

Tabela 5.15. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica B2 grupe tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	120V
13,3	-	-	-	-	4,5	4,1	4,3	2,8	7,9	1,6
14,4	1,7	5,8	4,8	6,9	4,0	5,2	5,0	4,9	6,1	4,3
15,9	1,9	3,8	3,1	4,0	2,4	2,2	3,5	3,0	5,3	2,6
18,0	5,6	6,3	6,7	8,6	6,5	7,1	6,2	5,3	7,2	3,8
22,1	0,7	1,6	2,1	3,0	2,7	3,4	3,7	3,4	5,5	2,7
24,6	1,9	1,5	1,5	1,5	1,2	1,5	1,5	1,3	1,4	1,3
26,6	6,1	4,1	4,2	3,6	5,9	6,3	8,4	5,5	3,2	4,6
32,6	0,9	0,9	0,8	0,6	0,5	1,0	0,7	1,0	0,6	1,2
35,6	4,5	4,7	3,4	3,1	2,7	2,3	1,6	2,2	1,2	2,2
41,7	2,9	2,3	1,9	1,6	1,7	1,8	1,7	3,0	2,2	2,8
44,5	41,3	35,3	35,0	34,5	38,0	40	38,2	41,2	38,4	43,4
59,4	-	-	-	-	-	0,2	0,3	0,6	0,4	0,5
65,7	0,4	0,7	1,0	1,2	1,2	1,0	1,0	1,9	1,2	1,6
75,7	0,1	0,1	0,1	0,1	0,7	0,1	-	-	-	-
79,7	0,2	0,2	0,4	0,5	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,1
93,7	2,8	2,9	2,7	2,8	2,3	2,4	2,1	1,7	1,3	2,1
100,0	2,0	2,3	2,1	2,0	2,3	3,0	2,5	2,5	2,0	2,5
104,2	1,1	0,6	0,6	0,5	0,3	0,4	0,6	0,4	0,3	0,3
144,3	1,0	1,2	2,6	2,3	3,5	5,7	7,0	9,0	8,6	11,5
158,3	0,7	0,9	1,6	1,8	2,2	3,2	5,5	5,3	4,7	6,9
170,2	-	-	-	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,3	0,3
217,2	24,2	24,8	25,4	21,3	17,1	8,7	5,6	4,2	1,9	3,7

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

Kada je u pitanju proteinska frakcija molekulske mase  $\approx 45$  kDa (aktin), ponovo se uočava da je koncentracija ovog proteina nakon 120. dana bila praktično ista kao i ona utvrđena u ekstraktu miofibrilarnih proteina sirovog nadeva B2 (0. dan). Dalje se može videti da je istovremeno sa razgradnjom teškog lanca miozina došlo do višestrukog porasta koncentracija proteinskih frakcija molekulskih masa  $\approx 144$  i  $158$  kDa. Takođe, registrovan je porast udela polipeptida molekulskih masa  $\approx 14$ ,  $16$ ,  $18$ ,  $22$ ,  $66$  i  $100$  kDa, a detektovane su i neke novoformirane frakcije nakon 9 ( $\approx 170$  kDa), 15 ( $\approx 13$  kDa) i 30 ( $\approx 59$  kDa) dana proizvodnje. Dalje se može uočiti da je tokom procesa proizvodnje došlo do degradacije frakcija molekulske mase  $\approx 25$ ,  $27$ ,  $36$ ,  $94$  i  $104$  kDa, dok je polipeptid od  $\approx 76$  kDa potpuno nestao (nije registrovan) nakon 60. dana proizvodnje.

U tabeli 5.16. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstrahovanim sarkoplazmatskim proteinima kobasica B4 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u kontrolisanim uslovima. Na osnovu prikazanih rezultata može se videti da je već iz sirovog nadeva za kobasice B4 grupe ekstrahovan veliki broj sarkoplazmatskih proteina molekulskih masa u rasponu od  $\approx 14$  kDa do  $\approx 148$  kDa. Tokom procesa proizvodnje došlo je do relevantnog porasta sadržaja polipeptida molekulske mase  $\approx 14$ ,  $17$ ,  $25$ ,  $32$ ,  $58$ , i  $62$  kDa, dok je deset novih proteinskih frakcija registrovano nakon 2 ( $\approx 15$ ,  $37$ ,  $86$  i  $129$  kDa), 6 ( $\approx 24$ ,  $40$ ,  $75$  i  $115$  kDa), 9 ( $\approx 117$  kDa) i 30 ( $\approx 131$  kDa) dana. Dalje se može videti da je sadržaj novonastalog polipeptida molekulske mase  $\approx 40$  kDa progresivno rastao (od 6. dana) tokom sušenja i zrenja, te je nakon 120 dana ova proteinska frakcija bila najzastupljeniji deo sarkoplazmatskih proteina ekstrahovanih iz neupakovanih kobasica (28,2%), a posebno iz onih upakovanih u vakuumu (34,9%). Takođe, tokom proizvodnje je registrovana degradacija polipeptida molekulske mase  $\approx 22$ ,  $34$ ,  $42$ ,  $44$ ,  $53$ ,  $78$  i  $93$  kDa, a interesantno je zapaziti da ovde nije došlo do potpune razgradnje nekih frakcija sarkoplazmatskih proteina, kao što je to bio slučaj u kobasicama A2 i B2 grupe.

U tabeli 5.17. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstrahovanim miofibrilarnim proteinima kobasica B4 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u kontrolisanim uslovima. Kako se iz prikazanih rezultata može videti HMM ( $\approx 220$  kDa) je u velikoj meri degradiran tokom proizvodnje, te je već nakon 30 dana izgubio više od 65% svoje inicijalne koncentracije. Na kraju procesa proizvodnje (120. dan) registrovani udeo ovog polipeptida u ekstraktu miofibrilarnih proteina neupakovanih kobasica je iznosio svega 4,4%, a upakovanih 2,7%.

Tabela 5.16. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica B4 grupe tokom 120 dana proizvodnje u kontrolisanim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	45	90	120	120V
13,9	3,0	2,5	3,9	4,1	2,9	4,0	4,0	4,3	5,4	4,7
15,0	-	0,6	1,0	0,9	0,8	1,6	1,4	1,0	1,3	1,0
17,1	2,2	1,4	2,5	2	1,5	2,7	3,3	3,2	3,3	2,5
22,4	2,7	2,7	2,6	2,5	2,2	1,8	1,7	1,3	1,5	1,2
23,6	-	-	1,3	0,9	0,9	0,7	0,8	0,7	0,5	0,5
25,1	4,8	6,6	6,0	5,6	5,9	6,2	6,7	6,7	8,0	6,9
26,8	6,8	7,5	7,4	6,9	7,7	6,3	5,6	7,9	7,0	6,9
31,9	3,7	3,1	3,3	3,6	3,9	3,2	3,5	2,7	4,5	2,0
34,4	9,3	3,7	2,1	1,8	1,5	2,3	2,4	2,1	1,6	2,0
36,8	-	0,6	0,9	0,7	1,2	1,0	0,8	1,0	1,3	2,2
40,1	-	-	11,3	12,7	20	26,8	29,3	29,2	28,2	34,9
42,0	19,3	21,0	12,0	10,9	5,9	3,9	3,3	4,3	3,0	3,0
44,4	25,5	24,6	21,4	22,8	21,9	12,9	10,9	10,7	11,4	3,8
53,1	2,3	1,9	1,4	1,2	0,9	0,6	0,5	0,4	0,2	0,1
58,1	10,5	11,9	11	11,9	11,7	12,9	13,4	12,4	11,6	13,7
62,0	4,3	5,5	5,4	4,9	5,2	6,9	6,7	6,8	6,1	7,4
74,9	-	-	0,4	0,3	0,3	0,3	0,2	0,4	0,2	0,5
77,9	1,4	1,8	1,4	1,6	1,4	1,3	1,3	1,1	1,0	1,4
83,2	0,6	0,6	0,6	0,7	0,6	0,9	0,9	0,7	0,7	1,1
85,5	-	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1
93,3	2,2	1,0	0,7	0,6	0,4	0,2	0,1	0,1	0,1	0,4
99,2	0,3	0,9	1,3	1,2	1,1	1,0	0,7	0,4	0,5	0,7
114,7	-	-	0,2	0,3	0,2	0,6	0,6	0,6	0,2	0,8
116,9	-	-	-	0,1	0,1	0,4	0,5	0,6	0,6	0,8
129,0	-	0,6	0,6	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3
130,5	-	-	-	-	-	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5
148,0	1,1	1,3	1,1	1,3	1,3	0,8	0,8	0,8	1,0	0,5

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

Kada je u pitanju aktin ( $\approx 45$  kDa), ponovo se uočava da je koncentracija ovog proteina nakon 120. dana bila praktično ista kao i ona utvrđena u ekstraktu miofibrilarnih proteina sirovog nadeva B4 (0. dan). Dalje se može videti da je istovremeno sa razgradnjom teškog lanca miozina došlo do višestrukog porasta koncentracija proteinskih frakcija molekularnih masa  $\approx 145$  i  $159$  kDa. Takođe, registrovan je porast udela polipeptida molekularnih masa  $\approx 14$ ,  $16$ ,  $22$ ,  $33$ ,  $66$  i  $100$  kDa, a detektovane su i neke novoformirane frakcije nakon 2 ( $\approx 30$  kDa), 6 ( $\approx 59$  kDa) i 30 ( $\approx 40$  kDa) dana proizvodnje. Dalje se može uočiti da je tokom procesa proizvodnje došlo do degradacije frakcija molekularne mase  $\approx 18$ ,  $25$ ,  $26$ ,  $35$ ,  $42$ ,  $93$  i  $104$  kDa, dok je polipeptid od  $\approx 73$  kDa potpuno nestao, odnosno nije registrovan nakon 30 dana

proizvodnje. Takođe, uočeno je da je frakcija molekulske mase  $\approx 30$  kDa potpuno hidrolizovana u periodu od 90. do 120. dana u neupakovanim kobasicama, dok u onim upakovanim u vakuumu to nije bio slučaj.

Tabela 5.17. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica B4 grupe tokom 120 dana proizvodnje u kontrolisanim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	45	90	120	120V
14,4	1,7	1,6	3,1	3,1	3,6	4,4	4,7	5,7	6,0	4,3
16,3	1,9	1,2	1,6	1,3	1,4	1,7	1,4	2,9	2,2	1,7
18,0	5,6	4,4	4,9	4,5	4,7	4,8	4,3	4,5	4,1	2,1
22,0	0,7	0,7	1,6	1,4	1,8	1,8	1,8	2,8	3,1	2,5
24,7	1,9	1,5	1,3	1,2	0,8	1,0	0,8	1,5	1,6	1,9
26,4	6,1	6,1	5,7	5,7	6,2	6,2	7,3	5,4	4,4	3,4
29,8	-	0,5	0,3	0,5	0,5	0,5	0,3	0,3	-	0,4
32,5	0,9	1,3	1,3	1,6	1,5	2,0	1,8	2,3	2,2	2,1
35,4	4,5	5	3,4	3,7	3,3	3,7	2,9	3,6	3,5	3,2
40,4	-	-	-	-	-	1,6	0,8	1,4	1,3	1,5
41,5	2,9	2,2	1,5	1,5	1,8	1,7	1,5	1,3	1,8	1,8
44,3	41,3	40	41,7	42,8	43,5	40,9	42,7	43,8	43,6	43,8
59,4	-	-	0,1	0,1	0,2	0,5	0,5	0,6	0,6	0,6
65,8	0,4	0,9	0,9	1,0	1,1	1,4	1,1	1,0	1,0	2,6
73,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	-	-	-	-	-
78,4	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,5
93,1	2,8	3,1	2,9	2,9	2,8	2,1	2,6	2,0	2,1	2,9
99,9	2,0	2,7	2,9	3,0	3,2	3,3	3,4	3,1	3,0	2,4
104,2	1,1	0,9	0,6	0,5	0,4	0,5	0,4	0,5	0,4	0,3
144,5	1,0	2,6	3,3	3,6	4,4	7,9	8,9	6,0	9,1	12,7
159,1	0,7	2,5	2,8	2,8	3,7	5,9	6,6	5,2	5,4	6,6
219,1	24,2	22,4	19,8	18,5	14,9	7,9	6,0	5,8	4,4	2,7

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

U tabeli 5.18. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstrahovanim sarkoplazmatskim proteinima kobasica C2 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u kontrolisanim uslovima. Na osnovu prikazanih rezultata može se videti da je već iz sirovog nadeva za kobasice C2 grupe ekstrahovano 18 frakcija sarkoplazmatskih proteina molekulske mase u rasponu od  $\approx 14$  kDa do  $\approx 147$  kDa. Tokom procesa proizvodnje došlo je do relevantnog porasta koncentracija polipeptida molekulske mase  $\approx 14$ , 17, 24, 40, 58, 61 i 83 kDa, dok je 6 novih proteinskih frakcija registrovano nakon 2 ( $\approx 114$  i 128 kDa), 6 ( $\approx 15$  kDa), 9 ( $\approx 136$  kDa) i 90 ( $\approx 154$  i 188 kDa) dana.

Tabela 5.18. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica C2 grupe tokom 120 dana proizvodnje u kontrolisanim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)								
	0	2	6	9	15	30	60	120	120V
13,9	0,9	1,4	1,5	1,1	1,3	2,1	2,0	2,3	2,4
14,6	-	-	0,3	0,3	1,2	1,5	1,2	0,9	1,2
16,8	1,8	1,4	1,7	0,9	0,6	2,7	3,4	3,0	2,7
21,9	1,8	2,0	1,9	2,2	2,5	2,0	1,7	1,1	1,3
24,4	3,1	5,0	3,5	6,7	7,3	6,8	6,7	6,3	5,8
26,2	7,7	8,6	4,7	8,5	7,7	3,2	2,4	1,2	1,1
30,7	3,7	4,3	3,7	2,8	1,0	0,8	0,9	0,6	0,5
33,4	9,4	1,6	2,4	1,3	1,8	1,3	1,3	1,2	0,8
39,9	14,3	21,5	26,8	32,8	28,8	37,2	38,8	41,3	43,3
42,3	34,2	29,5	28,7	13,0	14,7	8,2	6,8	6,3	4,9
52,2	1,8	1,7	1,9	1,7	1,0	0,1	-	-	-
57,5	9,1	10,9	10,9	13,3	15,5	16,2	17,1	18,1	18,4
61,0	5,5	6,1	6,4	9,6	10,2	11,5	12,9	12,5	11,9
68,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2	-	-	-
75,0	1,1	1,4	1,2	1,3	1,3	0,9	0,7	0,6	0,7
83,0	0,6	0,9	0,8	1,0	1,7	1,9	2,0	2,2	1,9
92,3	2,7	0,6	1,1	0,1	-	-	-	-	-
97,7	0,7	1,1	0,8	0,5	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2
114,0	-	0,1	0,1	0,5	0,8	1,3	1,2	1,0	1,1
128,4	-	0,2	0,1	0,5	0,8	1,1	0,7	0,4	0,5
136,3	-	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,4
146,8	1,5	1,5	1,4	1,6	1,2	0,7	-	-	-
153,9	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,7
187,5	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,2

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

Dalje se može videti da je istovremeno sa degradacijom frakcije od  $\approx 42$  kDa sadržaj polipeptida molekularne mase  $\approx 40$  kDa progresivno rastao tokom sušenja i zrenja, te je nakon 120 dana ova proteinska frakcija bila najzastupljeniji deo sarkoplazmatskih proteina ekstrahovanih kako iz neupakovanih kobasica (41,3%), tako i iz onih upakovanih u vakuumu (43,3%). Takođe, tokom proizvodnje je registrovana i degradacija polipeptida molekularne mase  $\approx 22$ , 26, 31, 33, 75 i 98 kDa, dok je 4 frakcije potpuno hidrolizovano nakon 15 ( $\approx 92$  kDa) i 60 ( $\approx 52$ , 68 i 147 kDa) dana proizvodnje.

U tabeli 5.19. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstrahovanim miofibrilarnim proteinima kobasica C2 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u kontrolisanim uslovima. Kako se iz prikazanih rezultata može videti HMM ( $\approx 220$  kDa) je u velikoj meri degradiran tokom proizvodnje, te je već

nakon 15 dana izgubio više oko 60% svoje inicijalne koncentracije. Na kraju procesa proizvodnje (120. dan) registrovani udeo ovog polipeptida u ekstraktu miofibrilarnih proteina neupakovanih kobasica je iznosio svega 2,3%, a upakovanih 2,2%.

Tabela 5.19. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica C2 grupe tokom 120 dana proizvodnje u kontrolisanim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)								
	0	2	6	9	15	30	60	120	120V
13,9	0,2	0,1	1,5	0,3	0,8	1,4	1,3	1,9	2,2
14,2	-	-	-	0,4	0,7	1,4	2,2	2,6	2,3
15,6	0,5	0,2	0,7	0,6	0,3	0,5	0,7	1,2	0,6
17,7	3,1	3	3,1	3,3	3,2	3,0	2,9	2,1	1,0
21,9	-	0,2	0,4	0,5	0,4	0,7	1,7	2,0	1,8
24,7	0,8	0,8	0,8	0,7	0,3	0,4	1,0	1,8	1,4
26,6	4,4	3,7	3,8	5,3	5,8	7,3	6,3	6,0	5,1
30,6	-	-	-	-	-	-	2,2	2,4	3,4
32,2	0,2	0,6	0,5	1,1	3,8	5,2	2,7	2,8	2,2
35,3	4,0	4,3	4,8	4,8	5,9	5,5	5,4	5,8	6,1
39,5	-	-	-	-	-	3,7	4,9	6,9	6,9
41,4	1,8	0,9	0,9	1,6	3,8	8,6	10,8	10,2	8,6
44,5	41,1	49,1	50,9	48,2	36,7	23,8	18,5	17,5	12,7
59,4	-	-	0,4	0,3	0,3	0,6	0,9	1,1	1,1
67,2	0,2	0,1	0,1	0,3	1,0	1,9	2,2	2,3	2,8
75,7	0,1	0,2	0,1	0,2	0,5	0,4	0,5	0,7	0,7
78,0	0,1	0,1	0,1	0,3	0,5	0,2	0,2	0,4	0,5
94,0	2,0	2,4	2,7	2,5	2,8	2,0	2,0	2,4	2,5
101,2	3,0	2,5	2,5	2,9	2,9	1,8	1,4	1,0	1,2
104,5	1,6	0,9	0,8	1,0	0,9	0,8	0,3	0,2	0,3
145,2	1,3	2,8	1,9	3,3	10,6	17,6	20,4	20,3	27
164,0	0,8	1,9	1,3	1,8	5,4	7,7	7,9	6,1	7,4
223,5	34,8	26,2	22,7	20,6	13,4	5,5	3,6	2,3	2,2

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

Kada je u pitanju aktin ( $\approx 45$  kDa), uočava se da je, za razliku od kobasica proizvedenih u prvoj proizvodnoj sezoni (A2, B2 i B4), u kobasicama C2 grupe došlo do razgradnje ovog miofibrilarnog proteina, te je nakon 30. dana proizvodnje registrovan veliki pad njegovog udela ( $\approx 40\%$ ) u ukupnom ekstraktu. Na kraju perioda proizvodnje udeo aktina u ekstraktu miofibrilarnih proteina neupakovanih kobasica je iznosio 17,5%, a upakovanih u vakuum svega 12,7%. Dalje se može videti da je istovremeno sa razgradnjom teškog lanca miozina došlo do višestrukog porasta koncentracija proteinskih frakcija molekulskih masa  $\approx 145$  i 164 kDa. Takođe, registrovan je porast udela polipeptida molekulskih masa  $\approx 14$ , 16,

25, 27, 32, 35, 41, 67, 76 i 78 kDa, a detektovane su i neke novoformirane frakcije nakon 2 ( $\approx 22$  kDa), 6 ( $\approx 59$  kDa), 9 ( $\approx 14$  kDa), 30 ( $\approx 40$  kDa) i 60 ( $\approx 31$  kDa) dana proizvodnje. Dalje se može uočiti da je tokom procesa proizvodnje došlo do neznatne degradacije frakcija molekulske mase  $\approx 18$ , 101 i 104 kDa.

Tabela 5.20. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica C3 grupe tokom 120 dana proizvodnje u kontrolisanim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									120V
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	
13,9	1,8	1,7	1,5	2,3	3,4	9,8	5,1	3,7	3,9	3,8
14,6	-	-	0,4	1,5	4,0	5,6	6,6	8,5	9,4	10
16,9	2,4	1,1	0,7	0,4	2,5	9,4	6,7	9,8	9,3	9,5
22,2	2,7	2,1	2,5	2,4	3,0	4,7	2,8	3,7	3,1	2,8
24,8	5,3	6,2	7,2	8,7	8,3	7,4	7,0	6,6	6,6	6,5
26,6	8,9	10,1	9,7	8,2	6,1	2,9	1,8	2,2	1,6	1,0
31,3	3,6	4,3	3,2	2,4	0,9	1,1	0,8	0,8	0,5	0,6
33,7	6,0	1,8	1,4	1,4	1,5	1,5	0,8	0,8	1,0	0,9
40,7	16,5	21	25,7	20,1	27,1	27,7	30,1	30,2	30,9	32,1
42,6	30,8	27,1	21,2	21,2	12,8	5,2	4,8	5,1	3,9	3,5
52,2	1,8	1,4	1,7	1,4	0,7	-	-	-	-	-
57,8	9,0	10,6	11,6	14,2	15,1	12,9	16,5	14,9	15,1	15,1
61,7	6,0	7,5	7,9	10,5	10,5	8,6	12,2	10,2	11,2	10,9
75,4	1,1	1,2	1,4	1,4	1,1	0,3	0,4	0,2	0,5	-
84,0	0,8	1,0	1,0	1,3	1,4	1,3	2,0	1,5	1,7	1,8
93,5	1,3	0,3	0,3	0,1	-	-	-	-	-	-
99,3	0,4	0,9	0,8	0,1	-	-	-	-	-	-
114,4	-	0,1	0,1	0,4	0,6	0,7	1,1	0,8	0,7	0,6
129,5	0,5	0,3	0,5	0,7	0,7	0,4	0,7	0,4	0,3	0,4
136,1	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3
149,8	1,1	1,2	1,1	1,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,1	0,2

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

U tabeli 5.20. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstrahovanim sarkoplazmatskim proteinima kobasica C3 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u kontrolisanim uslovima. Na osnovu prikazanih rezultata može se videti da je već iz sirovog nadeva za kobasice C3 grupe ekstrahovano 18 različitih frakcija sarkoplazmatskih proteina molekulskih masa u rasponu od  $\approx 14$  kDa do  $\approx 150$  kDa. Tokom procesa proizvodnje došlo je do porasta koncentracija polipeptida molekulske mase  $\approx 14$ , 17, 22, 25, 41, 58, 62 i 84 kDa, a 3 nove proteinske frakcije je registrovano nakon 2 ( $\approx 114$  i 136 kDa) i 6 ( $\approx 15$  kDa) dana. Dalje se može videti da je istovremeno sa degradacijom

frakcije od  $\approx 43$  kDa sadržaj polipeptida molekulske mase  $\approx 41$  kDa progresivno rastao tokom sušenja i zrenja, te je nakon 120 dana ova proteinska frakcija bila najzastupljeniji deo sarkoplazmatskih proteina ekstrahovanih kako iz neupakovanih kobasica (30,9%), tako i iz onih upakovanih u vakuumu (32,1%). Takođe, tokom proizvodnje je registrovana i degradacija polipeptida molekulske mase  $\approx 27$ , 31, 34 i 150 kDa, dok je 3 frakcije potpuno hidrolizovano nakon 15 ( $\approx 94$  i 99 kDa) i 30 ( $\approx 52$  kDa) dana proizvodnje. Dodatno, polipeptid molekulske mase  $\approx 75$  kDa nakon 120 dana proizvodnje nije detektovan u kobasicama upakovanim u vakuumu.

U tabeli 5.21. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstrahovanim miofibrilarnim proteinima kobasica C3 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u kontrolisanim uslovima. Kako se iz prikazanih rezultata može videti HMM ( $\approx 220$  kDa) je u velikoj meri degradiran tokom proizvodnje, te je već nakon 9 dana izgubio oko 60% svoje inicijalne koncentracije. Na kraju procesa proizvodnje (120. dan) registrovani udeo ovog polipeptida u ekstraktu miofibrilarnih proteina neupakovanih kobasica C3 grupe je iznosio svega 1,8%, a upakovanih 2,1%. Kada je u pitanju aktin ( $\approx 45$  kDa), takođe se uočava da je tokom proizvodnje došlo do razgradnje ovog proteina, te je njegov udeo na kraju perioda proizvodnje u ekstraktu miofibrilarnih proteina neupakovanih kobasica smanjen za  $\approx 60\%$ , a u ekstraktu onih upakovanih u vakuumu za  $\approx 70\%$ . Dalje se može videti da je istovremeno sa razgradnjom teškog lanca miozina došlo do višestrukog porasta koncentracija proteinskih frakcija molekulskih masa  $\approx 145$  i 158 kDa. Takođe, registrovan je porast udela polipeptida molekulskih masa  $\approx 15$ , 24, 25, 30, 40, 65 i 72 kDa, a detektovane su i neke novoformirane frakcije nakon 2 ( $\approx 21$  kDa) i 60 ( $\approx 39$  i 105 kDa) dana proizvodnje. Dalje se može uočiti da je tokom procesa proizvodnje došlo do degradacije frakcija molekulske mase  $\approx 17$  i 97 kDa, dok je polipeptid od  $\approx 47$  kDa potpuno hidrolizovan već nakon 2 dana.

U tabeli 5.22. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstrahovanim sarkoplazmatskim proteinima kobasica D1 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim uslovima. Na osnovu prikazanih rezultata može se videti da je već iz sirovog nadeva za kobasice D1 grupe ekstrahovano 18 različitih frakcija sarkoplazmatskih proteina molekulskih masa u rasponu od  $\approx 14$  kDa do  $\approx 147$  kDa. Tokom procesa proizvodnje došlo je do porasta koncentracija polipeptida molekulske mase  $\approx 14$ , 25, 41, 58, 61 i 82 kDa, a 4 nove molekulske frakcije je detektovano nakon 2 ( $\approx 71$  kDa), 6 ( $\approx 114$  i 130 kDa) i 15 ( $\approx 15$  kDa) dana.



Tabela 5.21. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica C3 grupe tokom 120 dana proizvodnje u kontrolisanim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	120 V
14,5	0,7	0,9	0,7	0,5	0,4	0,3	1,6	2,7	2,5	2,2
16,6	2,8	3,2	2,8	4,1	3,6	2,5	3,0	1,4	0,8	0,4
20,6	-	0,3	0,2	0,3	0,3	0,4	1,6	1,6	2,3	2,0
23,7	0,5	1,8	0,4	0,4	0,1	0,2	1,1	1,3	1,8	1,6
25,4	2,8	4,3	3,6	6,1	7,5	8,6	8,5	6,2	5,6	4,8
30,3	0,2	0,7	0,7	1,2	2,1	5,4	5,6	5,6	5,2	6,0
33,4	5,3	5,7	5,6	6,1	7,1	6,4	6,1	6,0	5,8	4,5
39,2	-	-	-	-	-	-	5,0	5,8	6,5	6,2
39,5	2,4	2,6	1,6	2,6	4,8	12,5	12,6	14,2	10,6	11,7
42,7	39,1	45,1	43,1	52,5	42,8	32	23,7	20,9	14,8	11,1
56,5	1,1	1,1	1,6	1,0	0,5	0,3	0,6	0,7	0,7	0,6
65,0	0,1	0,1	0,4	0,3	0,6	0,8	0,7	1,8	2,4	2,8
72,4	0,5	0,4	0,2	0,9	1,2	0,4	1,6	0,6	1,2	1,1
89,2	2,1	2,7	2,2	1,9	2,0	1,4	2,5	1,7	2,6	2,2
97,3	4,0	3,8	4,4	3,5	3,9	3,0	1,4	1,0	1,0	1,1
105,1	-	-	-	-	-	-	0,4	0,5	0,3	0,3
144,6	0,9	1,7	1,5	3,5	7,2	15,9	17,0	19,9	26,4	30,8
157,5	1,9	2,0	3,1	2,3	4,1	6,3	4,8	5,8	7,7	8,5
222,5	35,6	23,6	27,9	12,8	11,8	3,6	2,2	2,3	1,8	2,1

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

Dalje se može videti da je istovremeno sa degradacijom frakcije od  $\approx 43$  kDa sadržaj polipeptida molekularne mase  $\approx 41$  kDa progresivno rastao tokom sušenja i zrenja, te je nakon 120 dana ova proteinska frakcija bila najzastupljeniji deo sarkoplazmatskih proteina ekstrahovanih kako iz neupakovanih kobasica (36,0%), tako i iz onih upakovanih u vakuumu (40,0%). Za vreme perioda proizvodnje je registrovana i lagana ali konstantna degradacija polipeptida molekularne mase  $\approx 23$ , 27, 32 i 78 kDa, dok su molekularne frakcije od  $\approx 34$  i 93 kDa već nakon dva dana izgubile oko 50% svoje inicijalne koncentracije. Takođe, detektovano je da su u periodu proizvodnje potpuno nestale frakcije od  $\approx 53$ , 99 i 147 kDa.

U tabeli 5.23. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstrahovanim miofibrilarnim proteinima kobasica D1 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim uslovima. Kako se iz prikazanih rezultata može videti HMM ( $\approx 220$  kDa) je u velikoj meri degradiran tokom proizvodnje, te je nakon 15 dana izgubio oko 65% svoje inicijalne koncentracije. Na kraju procesa proizvodnje (120. dan) registrovani udeo ovog polipeptida u ekstraktu miofibrilarnih proteina neupakovanih kobasica

D1 grupe je iznosio svega 0,2%, a upakovanih 1,1%. Kada je u pitanju aktin ( $\approx 45$  kDa), takođe se uočava da je tokom proizvodnje došlo do razgradnje ovog proteina, te je njegov udeo na kraju perioda proizvodnje u ekstraktu miofibrilarnih proteina kako neupakovanih, tako i kobasica upakovanih u vakuumu smanjen za  $\approx 35\%$  u odnosu na početnu koncentraciju.

Tabela 5.22. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica D1 grupe tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	120 V
14,0	1,0	1,2	1,2	1,8	1,5	2,0	2,7	2,5	2,6	1,7
14,8	-	-	-	-	0,6	1,4	1,2	1,1	0,9	0,6
17,1	2,2	2,1	1,7	1,2	0,8	0,7	2,6	2,7	2,4	1,8
23,0	2,0	2,1	2,0	2,2	2,3	1,9	1,8	1,5	1,5	2,2
25,1	3,7	4,1	5,1	6,2	7,3	7,7	7,0	7,3	8,8	7,4
26,7	8,3	8,1	9,3	9,2	9,4	7,6	3,6	2,8	1,6	1,6
31,7	4,1	3,7	4,5	5,6	4,4	1,6	1,2	1,1	1,1	1,1
34,3	8,0	3,1	0,8	1,1	1,7	2,3	2,1	2,2	2,5	2,2
40,6	18,5	23,1	26,2	25,5	27,3	24,2	34,4	36,7	36,0	40,0
42,9	30,3	27,4	23	19,3	14,1	18,2	9,8	9,0	9,3	7,9
52,9	1,4	1,5	1,3	1,3	1,2	0,8	0,2	0,1	-	-
57,9	9,7	12,1	12,2	12,3	12,6	14,3	16	15,8	15,3	17,1
60,7	5,0	5,6	6,6	7,6	9,3	10,8	12,2	12,4	13,9	12,6
71,4	-	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,3	0,4	0,2
78,1	1,2	1,6	1,7	1,9	1,8	1,4	0,6	0,5	0,6	0,6
82,3	0,4	0,6	0,8	0,9	1,1	1,4	1,7	1,7	1,9	1,6
93,3	2,7	1,4	0,5	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
99,1	0,5	0,8	1,2	1,4	1,4	0,5	0,2	-	-	-
113,7	-	-	0,1	0,1	0,3	0,8	1,0	1,0	0,8	0,9
129,2	-	-	0,1	0,1	0,4	0,8	0,8	0,7	0,3	0,4
147,2	1,0	1,4	1,5	1,8	2,0	1,3	0,6	0,5	-	-

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

Dalje se može videti da je tokom proizvodnje došlo do višestrukog porasta koncentracija proteinskih frakcija molekulskih masa  $\approx 142$  i  $158$  kDa. Takođe, registrovan je porast udela polipeptida molekulskih masa  $\approx 15$ ,  $18$ ,  $25$ ,  $27$ ,  $33$ ,  $36$ ,  $42$  i  $67$  kDa, a detektovane su i neke novoformirane molekulske frakcije nakon 2 ( $\approx 23$  kDa), 15 ( $\approx 61$  i  $80$  kDa), 30 ( $\approx 31$  kDa) i 60 ( $\approx 39$  i  $115$  kDa) dana proizvodnje. Dalje se može uočiti da je tokom procesa proizvodnje došlo i do degradacije frakcija molekulske mase  $\approx 94$ ,  $100$  i  $105$  kDa, dok su polipeptidi od  $\approx 52$  i  $194$  kDa potpuno hidrolizovani nakon 60, odnosno 90 dana proizvodnje

Tabela 5.23. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica D1 grupe tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	120V
14,5	0,5	0,2	0,4	0,7	0,3	1,2	3,0	4,4	6,4	4,9
18,3	2,4	3,1	3,9	5,1	5,7	3,8	5,6	5,5	5,0	5,5
22,6	-	0,1	0,4	0,7	0,7	0,4	0,2	0,2	0,2	0,6
25,0	0,5	0,9	1,3	1,6	1,0	0,7	0,8	0,8	1,6	1,6
27,1	2,8	4,2	5,2	6,5	6,4	5,5	9,0	8,2	9,6	8,8
30,7	-	-	-	-	-	0,6	1,7	1,6	1,4	1,5
33,0	0,1	0,2	0,4	0,6	1,1	1,7	1,6	2,0	1,5	1,9
36,1	2,4	4,2	4,0	4,2	3,9	3,3	3,3	4,0	5,2	4,4
38,9	-	-	-	-	-	-	3,5	3,7	4,8	4,7
41,7	0,9	1,5	1,5	1,5	1,7	2,6	8,3	10,6	11,5	9,1
44,7	39,0	40,2	39,5	42,8	46,5	37,1	26,4	24,7	25,4	25,1
51,7	0,6	0,5	0,3	0,5	0,6	0,1	-	-	-	-
60,8	-	-	-	-	0,2	0,3	0,5	0,7	0,6	0,7
66,5	0,2	0,2	0,3	0,4	0,6	1,8	2,2	2,5	2,5	2,4
76,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,4	0,6	0,7
80,4	-	-	-	-	0,1	0,1	0,1	0,2	0,4	0,3
94,4	2,3	2,8	3,2	3,0	2,8	2,5	1,1	1,3	1,5	2,2
100,0	2,3	2,2	2,6	2,4	3,5	3,1	2,0	1,4	0,5	0,8
104,5	1,0	0,8	0,7	0,7	0,7	0,6	0,2	0,2	0,1	0,1
115,3	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	0,3	0,1
141,5	1,9	2,8	3,9	4,2	5,8	11,7	19,9	19,6	17,1	18,9
157,6	1,2	1,3	1,8	1,8	3,3	6,0	7,6	6,5	3,6	4,6
194,3	0,5	0,3	0,4	0,3	0,4	0,9	0,2	-	-	-
216,0	41,3	34,4	30,1	22,9	14,5	15,7	2,4	1,4	0,2	1,1

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

U tabeli 5.24. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstrahovanim sarkoplazmatskim proteinima kobasica D2 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim uslovima. Na osnovu prikazanih rezultata može se videti da je već iz sirovog nadeva za kobasice D2 grupe ekstrahovano 19 različitih frakcija sarkoplazmatskih proteina molekularnih masa u rasponu od  $\approx 14$  kDa do  $\approx 149$  kDa. Tokom procesa proizvodnje došlo je do porasta koncentracija polipeptida molekularne mase  $\approx 14$ , 26, 42, 59, 62 i 84 kDa, a 3 nove molekularne frakcije su detektovane nakon 2 ( $\approx 120$  kDa), 6 ( $\approx 115$  kDa) i 9 ( $\approx 135$  kDa) dana. Dalje se može uočiti da je istovremeno sa degradacijom frakcije od  $\approx 44$  kDa sadržaj polipeptida molekularne mase  $\approx 42$  kDa progresivno rastao tokom sušenja i zrenja, te je nakon 120 dana ova proteinska frakcija bila najzastupljeniji deo sarkoplazmatskih proteina ekstrahovanih kako iz neupakovanih kobasica

D2 grupe (39,1%), tako i iz onih upakovanih u vakuum (40,1%). Pored pomenute degradacije polipeptida od  $\approx 44$  kDa, za vreme perioda proizvodnje je registrovana i lagana ali konstantna hidroliza molekularskih frakcija mase  $\approx 24, 28, 33, 78$  i  $149$  kDa, dok je polipeptid od  $\approx 35$  kDa već nakon dva dana izgubio oko 45% svoje inicijalne koncentracije. Takođe, tokom perioda proizvodnje su potpuno nestale frakcije od  $\approx 54$  i  $101$  kDa, a sadržaj polipeptida od  $\approx 95$  kDa je nakon 120 dana bio drastično smanjen, dok je u upakovanim kobasicama ova molekularska frakcija bila potpuno hidrolizovana.

Tabela 5.24. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekularskih masa u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica D2 grupe tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	120V
14,4	1,3	1,1	0,9	1,2	2,0	3,5	3,7	3,6	4,1	3,4
17,8	2,1	2,3	1,2	0,5	0,4	1,6	2,9	2,7	2,4	2,3
23,6	2,1	2,2	2,2	2,3	2,5	2,4	1,5	1,5	1,1	1,0
25,8	4,1	5,2	6,1	7,3	8,7	8,2	8,2	7,9	8,3	6,9
27,5	8,9	8,9	8,8	9,2	7,2	2,3	1,8	1,7	0,5	0,6
32,6	4,0	4,7	4,6	4,5	1,8	0,6	0,8	1,0	0,8	0,7
35,4	6,6	3,5	1,1	1,1	1,5	2,0	1,8	2,1	2,0	1,8
41,5	17,2	22,5	25,8	29,9	30,3	33,5	39,6	39,7	39,1	40,1
43,6	30,6	25,1	23,5	15,5	13,9	14,0	7,4	7,0	5,4	6,7
54,0	1,4	1,3	1,3	1,1	1,0	0,4	-	-	-	-
58,8	10,4	11,8	12	12,5	13,8	14,6	15,1	15,9	14,1	17,2
62,2	5,7	6,3	7,1	9,3	10,9	12,0	12,7	13,2	17,8	15
78,0	1,5	1,4	1,6	1,5	1,6	1,1	0,5	0,5	0,6	0,4
83,8	0,4	0,7	1,0	1,1	1,3	1,5	1,6	1,6	2,5	1,9
94,5	2,2	1,3	0,5	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	-
100,7	0,2	0,5	0,7	0,7	0,6	-	-	-	-	-
114,7	-	-	0,1	0,2	0,5	0,7	1,0	1,0	0,4	0,8
119,6	-	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
129,8	0,1	0,1	0,1	0,2	0,8	0,7	0,7	0,1	0,4	0,7
135,2	-	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
148,8	1,2	1,0	1,3	1,5	0,8	0,4	0,3	0,2	0,1	0,2

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

U tabeli 5.25. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekularskih masa u ekstrahovanim miofibrilarnim proteinima kobasica D2 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim uslovima. Kako se iz prikazanih rezultata može videti HMM ( $\approx 220$  kDa) je u velikoj meri degradiran tokom proizvodnje, te je nakon samo 15 dana izgubio više od 50% svoje inicijalne koncentracije. Na kraju procesa

proizvodnje (120. dan) registrovani udeo ovog polipeptida u ekstraktu miofibrilarnih proteina neupakovanih kobasica D2 grupe je iznosio svega 0,5%, a upakovanih 1,4%. Kada je u pitanju aktin ( $\approx 45$  kDa), ponovo se uočava da je tokom proizvodnje došlo do hidrolize ovog proteina, te je njegov udeo na kraju perioda proizvodnje u ekstraktu miofibrilarnih proteina, kako neupakovanih, tako i upakovanih kobasica D2 grupe, smanjen za  $\approx 60\%$  u odnosu na početnu koncentraciju. Dalje se može videti da je tokom proizvodnje došlo do višestrukog porasta koncentracija proteinskih frakcija molekulskih masa  $\approx 42$ , 143 i 159 kDa. Takođe, registrovan je porast udela polipeptida molekulskih masa  $\approx 14$ , 18, 27, 33, 68 i 76 kDa, a detektovane su i neke novoformirane molekulske frakcije nakon 2 ( $\approx 22$  kDa), 9 ( $\approx 60$  kDa), 15 ( $\approx 30$  kDa) i 30 ( $\approx 38$  kDa) dana proizvodnje. Dalje se može uočiti da je tokom procesa proizvodnje došlo do degradacije frakcija molekulske mase  $\approx 36$ , 94, 100 i 105 kDa, dok su polipeptidi od  $\approx 52$  i 196 kDa potpuno hidrolizovani nakon 30, odnosno 60 dana proizvodnje.

Tabela 5.25. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica D2 grupe tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	120 V
14,2	0,5	0,3	0,4	0,5	0,6	1,4	1,7	2,5	7,7	7,6
18,0	2,5	5,9	4,3	3,5	4,1	4,0	3,8	4,2	7,8	7,3
22,3	-	0,2	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,5	0,3
24,8	1,0	1,6	1,8	1,2	1,0	0,5	0,8	0,9	1,6	0,7
26,9	3,3	5,4	6,1	4,8	6,8	7,9	8,0	6,9	7,8	5,8
30,4	-	-	-	-	0,7	1,4	2,0	2,0	1,6	1,2
32,9	0,2	0,4	0,4	0,5	1,4	2,1	2,0	2,1	1,3	1,5
35,9	4,0	5,5	4,1	3,1	3,4	4,1	4,0	4,0	4,3	3,5
38,4	-	-	-	-	-	1,3	5,7	6,1	5,0	4,2
41,8	1,3	1,3	1,3	1,1	1,9	5,1	10,2	10,2	13,6	9,7
44,9	40,2	40,1	40,8	46	46,5	34,9	22,3	21,2	15,3	15,3
52,2	0,5	1,1	0,4	0,3	0,1	-	-	-	-	-
60,1	-	-	-	0,1	0,1	0,4	0,4	0,4	2,2	0,5
67,6	0,2	0,2	0,1	0,1	0,3	1,0	1,5	1,3	2,1	2,4
75,6	0,2	0,1	0,1	0,3	0,5	0,7	0,4	0,2	1,1	1,3
94,1	2,2	3,1	3,5	3,6	3,0	2,5	1,4	1,2	0,9	0,9
100,2	1,9	2,4	2,3	2,6	2,3	2,4	1,8	1,7	0,5	0,5
104,9	0,9	1,2	0,7	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3
143,0	1,6	2,4	3,8	4,4	7,9	12,6	20,0	22,3	22,7	30,7
159,1	1,1	1,2	1,8	2,0	3,3	6,0	9,6	9,3	3,2	4,9
195,7	0,5	0,2	0,3	0,5	0,7	0,7	-	-	-	-
217,4	37,9	27,4	27,3	24,5	14,6	10,3	3,7	2,9	0,5	1,4

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

U tabeli 5.26. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstrahovanim sarkoplazmatskim proteinima kobasica E1 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u kontrolisanim uslovima. Na osnovu prikazanih rezultata može se videti da je već iz sirovog nadeva za kobasice E1 grupe ekstrahovano 18 različitih frakcija sarkoplazmatskih proteina molekularnih masa u rasponu od  $\approx 14$  kDa do  $\approx 149$  kDa. Tokom procesa proizvodnje došlo je do porasta koncentracije polipeptida molekularne mase  $\approx 14$ , 26, 41, 59, 63 i 84 kDa, a 4 nove molekularne frakcije je detektovano nakon 2 ( $\approx 115$  i 131 kDa), 60 ( $\approx 158$  kDa) i 90 ( $\approx 142$  kDa) dana.

Tabela 5.26. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica E1 grupe tokom 120 dana proizvodnje u kontrolisanim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	120 V
14,2	1,0	1,1	1,0	1,3	1,0	0,8	1,7	2,4	2,1	2,0
17,7	2,2	1,8	2,0	2,1	1,5	1,1	1,8	1,9	1,8	1,7
23,8	2,0	1,9	1,1	0,8	0,9	0,8	0,9	0,9	1,1	0,6
25,7	3,7	6,0	7,4	8,3	7,9	6,4	6,9	7,1	6,9	5,9
27,2	8,3	11,9	9,3	8,7	7,1	5,8	0,7	0,5	0,7	0,4
32,1	4,1	4,9	1,5	1,5	1,3	0,7	0,4	0,6	0,8	0,5
35,0	8,0	4,0	2,5	1,9	1,8	0,3	0,7	0,9	1,1	1,1
41,2	18,5	15,3	21,4	32,1	37,3	45,3	44,5	42	42,4	43,0
43,9	30,3	28,7	27,6	14,4	10,6	8,2	7,2	6,0	6,6	4,3
53,6	1,4	1,0	1,2	-	-	-	-	-	-	-
58,7	9,7	10,6	11,2	11,6	12,2	13,6	17,0	14,5	12,9	19,8
62,7	5,0	6,1	7,2	8,8	9,7	8,9	14,3	18,3	19,6	17,4
79,1	1,2	1,4	1,1	0,8	0,8	1,0	0,1	0,3	0,1	0,4
83,9	0,4	1,3	1,7	1,7	2,0	2,8	1,8	1,6	1,5	1,6
94,0	2,7	1,5	2,2	2,0	1,9	0,8	0,1	0,2	0,1	0,1
100,9	0,5	0,7	0,6	0,6	1,1	0,7	-	-	-	-
114,7	-	0,1	0,3	0,6	0,9	1,2	0,8	0,6	0,3	0,4
130,6	-	0,2	0,2	1,6	1,9	1,5	0,7	1,0	0,8	0,2
141,7	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,4	0,1
148,6	1,0	1,5	0,5	1,2	0,1	0,1	0,2	0,5	0,4	0,1
158,4	-	-	-	-	-	-	0,2	0,4	0,4	0,4

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

Dalje se može uočiti da je istovremeno sa degradacijom frakcije od  $\approx 44$  kDa sadržaj polipeptida molekularne mase  $\approx 41$  kDa progresivno rastao tokom sušenja i zrenja, te je nakon 120 dana ova proteinska frakcija bila najzastupljeniji deo sarkoplazmatskih proteina ekstrahovanih kako iz neupakovanih kobasica E1 grupe (42,4%), tako i iz onih upakovanih u

vakuu (43,0%). Pored pomenute degradacije polipeptida od  $\approx 44$  kDa, za vreme perioda proizvodnje je registrovana i lagana ali konstantna hidroliza molekulskih frakcija mase  $\approx 18$ , 24, 27, 32, 79 i 94 kDa, dok je polipeptid od  $\approx 35$  kDa već nakon dva dana izgubio 50% svoje inicijalne koncentracije. Takođe, registrovano je da su frakcije od  $\approx 54$  i 101 kDa potpuno nestale nakon 9, odnosno 60 dana proizvodnje.

Tabela 5.27. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica E1 grupe tokom 120 dana proizvodnje u kontrolisanim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	120V
14,3	0,5	0,1	0,5	1,0	0,8	1,4	7,0	9,6	9,9	8,9
18,1	2,4	3,3	4,0	3,7	4,3	5,3	9,5	9,9	9,8	3,4
22,1	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,7
24,7	0,5	0,5	0,2	0,2	0,3	0,3	1,2	1,2	1,7	1,8
26,5	2,8	7,8	8,9	7,7	7,3	6,5	8,7	7,9	7,6	5,2
29,8	-	0,7	1,0	1,5	2,0	2,6	2,5	1,6	1,2	2,9
31,9	0,1	1,6	2,5	2,2	1,8	1,5	1,1	1,0	0,4	0,9
35,1	2,4	4,9	6,0	5,7	4,7	4,2	5,8	5,2	4,2	4,1
39,2	-	-	-	-	2,1	4,9	7,1	8,4	9,7	7,5
40,5	0,9	3,0	3,2	7,0	8,1	10,2	11,2	11,9	14,9	10,1
43,7	39,0	40,2	41,3	31,9	25,1	21,8	15,4	17,1	17,5	17,9
50,7	0,6	0,4	0,1	-	-	-	-	-	-	-
57,1	-	-	-	0,3	0,4	0,4	1,4	3,4	5,0	1,3
65,4	0,2	0,3	0,3	0,8	1,2	1,4	1,4	1,7	1,0	3,3
74,2	0,1	0,3	0,4	0,4	0,6	0,4	0,7	0,7	0,6	3,0
77,9	-	0,2	0,3	0,4	0,6	0,3	0,3	1,3	0,7	1,0
86,5	-	0,6	0,5	0,4	0,5	0,2	-	-	-	-
92,0	2,3	2,5	2,6	2,3	2,2	1,6	1,0	1,3	1,0	1,5
97,9	2,3	2,1	2,3	1,8	1,9	1,7	0,8	0,6	0,1	0,3
102,4	1,0	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	-	-	-	-
113,1	-	-	-	-	-	-	0,3	0,3	0,3	0,3
138,4	1,9	8,9	11,0	16,6	18,7	21,8	20,3	12,2	10,6	21,1
155,7	1,2	2,9	3,3	4,8	6,7	6,7	3,3	3,7	3,1	3,9
194,3	0,5	0,4	0,2	0,3	0,2	0,1	-	-	-	-
217,4	41,3	18,5	10,8	10,5	10,0	6,2	0,8	0,9	0,6	0,9

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

U tabeli 5.27. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstrahovanim miofibrilarnim proteinima kobasica E1 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u kontrolisanim uslovima. Kako se iz prikazanih rezultata može videti HMM ( $\approx 220$  kDa) je veoma intenzivno degradiran tokom proizvodnje, te je već

nakon 6 dana izgubio više od 70% svoje inicijalne koncentracije. Na kraju procesa proizvodnje (120. dan) registrovani udeo ovog polipeptida u ekstraktu miofibrilarnih proteina neupakovanih kobasica E1 grupe je iznosio svega 0,6%, a upakovanih 0,9%. Kada je u pitanju aktin ( $\approx 45$  kDa), ponovo se uočava da je tokom proizvodnje došlo do hidrolize ovog proteina, te je njegov udeo na kraju perioda proizvodnje u ekstraktu miofibrilarnih proteina, kako neupakovanih, tako i upakovanih kobasica E1 grupe, smanjen za  $\approx 55\%$  u odnosu na početnu koncentraciju. Dalje se može videti da je tokom proizvodnje došlo do višestrukog porasta koncentracije proteinskih frakcija molekulske masa  $\approx 14$ , 18, 41 i 138 kDa. Takođe, registrovan je i porast udela polipeptida molekulske masa  $\approx 25$ , 27, 35, 65, 74 i 156 kDa, a detektovane su i neke novoformirane molekulske frakcije nakon 2 ( $\approx 22$ , 30, 32, 78 i 87 kDa), 9 ( $\approx 57$  kDa), 15 ( $\approx 39$  kDa) i 60 ( $\approx 113$  kDa) dana proizvodnje. Koncentracija novonastalih komponenti sa molekulskom masom od  $\approx 39$  i 57 je u periodu od formiranja do 120. dana značajno porasla. Dalje se može uočiti da je tokom procesa izrade došlo i do degradacije frakcija molekulske mase  $\approx 92$  i 98 kDa, dok je novonastalo jedinjenje od  $\approx 87$  kDa, kao i polipeptidi od  $\approx 102$  i 194 kDa, potpuno hidrolizovano nakon 60 dana proizvodnje.

U tabeli 5.28. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekulske masa u ekstrahovanim sarkoplazmatskim proteinima kobasica E2 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u kontrolisanim uslovima. Na osnovu prikazanih rezultata može se videti da je već iz sirovog nadeva za kobasice E2 grupe ekstrahovano 19 različitih frakcija sarkoplazmatskih proteina molekulske masa u rasponu od  $\approx 14$  kDa do  $\approx 151$  kDa. Tokom procesa proizvodnje došlo je do porasta koncentracija polipeptida molekulske mase  $\approx 14$ , 40, 58, 61 i 83 kDa, a 4 nove molekulske frakcije je detektovano nakon 2 ( $\approx 113$  kDa) i 6 ( $\approx 15$ , 128 i 136 kDa) dana. Dalje se može uočiti da je istovremeno sa degradacijom frakcije od  $\approx 42$  kDa sadržaj polipeptida molekulske mase  $\approx 40$  kDa progresivno rastao tokom sušenja i zrenja, te je nakon 120 dana ova proteinska frakcija bila najzastupljeniji deo sarkoplazmatskih proteina ekstrahovanih kako iz neupakovanih kobasica E2 grupe (39,3%), tako i iz onih upakovanih u vakuumu (43,3%). Pored pomenute degradacije polipeptida od  $\approx 42$  kDa, za vreme perioda izrade je registrovana i lagana, ali konstantna hidroliza molekulske frakcije mase  $\approx 23$ , 27, 31 i 151 kDa, dok su polipeptidi od  $\approx 34$  i 94 kDa već nakon dva dana izgubili oko 50% svoje inicijalne koncentracije. Takođe, registrovana je potpuna hidroliza nekih molekulske frakcija nakon 6 ( $\approx 100$  kDa), 60 ( $\approx 53$  kDa) i 120 ( $\approx 130$  kDa) dana izrade.



Tabela 5.28. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica E2 grupe tokom 120 dana proizvodnje u kontrolisanim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	120V
14,4	1,3	1,2	0,8	1,3	1,3	2,7	2,4	2,4	2,4	2,0
14,9	-	-	0,7	0,7	1,0	1,4	1,2	1,0	1,2	1,1
17,4	2,1	1,6	1,1	1,9	2,5	3,6	3,1	2,4	2,4	1,5
22,8	2,1	1,5	1,8	1,7	1,8	1,6	0,6	0,5	0,3	0,3
25,0	4,1	4,3	6,7	4,0	4,3	4,5	3,7	4,1	3,6	3,5
26,6	8,9	8,4	1,5	0,8	0,7	0,6	0,4	0,3	0,5	0,6
31,2	4,0	3,4	0,4	0,5	0,8	1,1	1,1	1,4	1,3	1,0
34,4	6,6	3,2	1,1	0,7	0,8	1,1	1,1	1,8	1,8	1,5
39,8	17,2	25,7	36	44,1	41,3	38,5	37,3	36	39,3	43,3
42,3	30,6	26,8	20,8	11,8	6,6	5,3	4,6	4,0	2,8	3,9
53,0	1,4	1,2	0,7	0,4	0,2	0,2	-	-	-	-
57,7	10,4	11,6	14,8	15,1	18,2	18,8	21,7	19,0	20,5	18,9
61,1	5,7	5,9	10,2	13,2	15,4	16,2	18,0	22,5	19,5	18,4
76,8	1,5	1,8	0,7	0,5	1,0	0,9	0,8	0,5	0,6	0,4
82,6	0,4	0,2	1,2	1,4	1,9	2,1	2,5	2,9	2,7	2,6
93,6	2,2	1,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1
99,9	0,2	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-
113,1	-	0,2	0,6	0,6	0,9	0,7	0,5	0,2	0,3	0,3
128,0	-	-	0,3	0,3	0,5	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
130,0	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,1	-	-
136,1	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2
150,5	1,2	1,1	0,2	0,3	0,2	0,1	0,3	0,4	0,2	0,2

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

U tabeli 5.29. su prikazani udeli (%) pojedinačnih proteinskih frakcija različitih molekularnih masa u ekstrahovanim miofibrilarnim proteinima kobasica E2 grupe tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja u kontrolisanim uslovima. Kako se iz prikazanih rezultata može videti HMM ( $\approx 220$  kDa) je veoma intenzivno degradiran tokom proizvodnje, te je već nakon 9 dana izgubio oko 60% svoje inicijalne koncentracije. Na kraju procesa proizvodnje (120. dan) registrovani udeo ovog polipeptida u ekstraktu miofibrilarnih proteina neupakovanih kobasica E2 grupe je iznosio svega 0,7%, a upakovanih 1,3%. Kada je u pitanju aktin ( $\approx 45$  kDa), uočava se da je tokom proizvodnje došlo do intenzivne hidrolize ovog proteina, te je njegov udeo na kraju perioda proizvodnje u ekstraktu miofibrilarnih proteina, kako neupakovanih, tako i upakovanih kobasica E1 grupe, smanjen za 65-70% u odnosu na početnu koncentraciju. Dalje se može videti da je tokom proizvodnje došlo do višestrukog porasta koncentracija proteinskih frakcija molekularnih masa  $\approx 14$  i 140 kDa, dok je udeo

polipeptida od  $\approx 41$  kDa rastao do 60. dana, da bi zatim na osnovu njegove hidrolize nastala frakcija bliske molekulske mase od  $\approx 39$  kDa. Koncentracija ove novonastale komponente sa molekulskom masom od  $\approx 39$  je u periodu od formiranja do 120. dana značajno porasla. Takođe, registrovan je i porast udela polipeptida molekulskih masa  $\approx 18, 24, 26, 32, 35, 67, 75, 93$  i  $157$  kDa, a detektovane su i neke novoformirane molekulske frakcije nakon 2 ( $\approx 60, 78$  i  $88$  kDa), 6 ( $\approx 30$  i  $39$  kDa) i 9 ( $\approx 22$  kDa) dana proizvodnje. Dalje se može uočiti da je tokom procesa izrade došlo i do degradacije frakcije molekulske mase  $\approx 99$  kDa, dok su polipeptidi od  $\approx 49, 88, 104$  i  $196$  kDa potpuno hidrolizovani nakon 6, 30 ili 60 dana proizvodnje.

Tabela 5.29. Udeo (%) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica E2 grupe tokom 120 dana proizvodnje u kontrolisanim uslovima

M (kDa)	Vreme (dan)									
	0	2	6	9	15	30	60	90	120	120V
14,1	0,5	0,1	0,2	0,2	1,1	0,9	3,1	4,5	6,8	4,2
18,0	2,5	3,0	3,3	4,2	3,5	3,1	4,1	5,8	4,9	5,6
21,9	-	-	-	0,2	0,1	0,3	0,8	0,4	0,8	0,5
24,4	1,0	0,1	0,1	0,4	0,6	1,0	1,2	1,4	1,8	1,5
26,4	3,3	4,2	4,4	4,6	7,1	7,8	6,0	6,9	5,6	5,3
30,3	-	-	0,1	0,9	1,7	2,7	1,9	1,5	1,9	1,8
31,9	0,2	0,1	0,2	0,8	1,8	2,1	0,8	0,7	1,2	0,9
35,3	4,0	1,1	1,5	4,1	5,3	5,8	4,1	7,0	7,0	6,6
39,4	-	-	0,6	1,8	5,6	9,2	7,4	18,2	20,7	20,6
41,1	1,3	1,0	2,2	7,2	11,3	12,9	16,0	10,1	-	-
44,3	40,2	39,5	32,9	28,3	26,4	20,8	14,5	16,3	12,3	14,0
48,8	0,5	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-
59,9	-	0,3	0,1	0,4	1,1	1,0	1,2	2,5	2,7	2,1
68,6	0,2	0,1	0,1	0,2	0,8	0,4	0,9	0,8	3,0	1,8
75,3	0,2	0,2	0,1	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4	2,2	1,3
78,4	-	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,3	1,2	1,1
87,7	-	0,3	0,4	0,2	0,2	0,2	-	-	-	-
92,6	2,2	2,4	3,7	3,4	1,9	1,6	0,5	0,6	2,2	1,7
99,1	1,9	2,1	2,7	2,0	1,2	1,1	0,2	0,1	0,1	0,5
103,7	0,9	0,8	0,7	0,9	0,4	0,4	-	-	-	-
140,1	1,6	2,7	12,5	16,8	15,6	18,4	26,2	19,3	22,4	26,0
157,4	1,1	1,4	6,1	7,0	4,9	4,8	5,5	2,1	2,5	3,2
195,6	0,5	0,6	0,8	0,3	0,2	-	-	-	-	-
217,7	37,9	39,5	27,1	15,6	8,5	4,8	4,9	1,1	0,7	1,3

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

## 5.2.C. REZULTATI ISPITIVANJA NEKIH POKAZATELJA KVALITETA *PETROVAČKE KOBASICE*

### 5.2.C.1. TEKSTURA (ČVRSTOĆA)

U tabeli 5.30. su prikazani rezultati dobijeni određivanjem čvrstoće, odnosno sile probijanja (N) devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima, u tri proizvodne sezone. Takođe, na grafiku 5.17. su prikazane promene odnosa sile probijanja (N) između unutrašnje i spoljašnje frakcije kobasica ovih devet grupa tokom 120. dana proizvodnje.

Kako se iz prikazanih rezultata može videti, sila probijanja je nakon 2. dana varirala ( $P < 0,05$ ) od vrednosti 2,00 N, utvrđene u kobasicama C3 grupe, do 3,49 N, kolika vrednost ovog pokazatelja je utvrđena u kobasicama E2 grupe izrađenim u trećoj proizvodnoj sezoni. Nadalje se iz prikazanih rezultata može videti da je sila probijanja kobasica svih eksperimentalnih grupa rasla tokom procesa proizvodnje. Otuda je vrednost posmatranog pokazatelja na kraju procesa sušenja značajno varirala ( $P < 0,05$ ) u intervalu od 5,79 N (C3) do 12,4 N (D1). U periodu od kraja procesa sušenja do 120. dana sila probijanja je dodatno, statistički značajno, narasla ( $P < 0,05$ ) za većinu eksperimentalnih grupa kobasica, a to je posebno bilo izraženo za kobasice koje nisu bile upakovane. Utvrđene vrednosti sile probijanja nakon četiri meseca proizvodnje su za neupakovane kobasice varirale u intervalu od 9,07 N (C2) do čak 41,4 N (D2). U isto vreme, vrednosti posmatranog pokazatelja su za upakovane kobasice bile statistički značajno manje, a kretale su se u intervalu od 4,96 (C3) do 18,7 N (E1) za vakuum (V) upakovane, odnosno od 4,55 N (C2) do 17,1 N (B2) za upakovane u modifikovanoj atmosferi (M).

Kako se iz rezultata prikazanih na grafiku 5.17. može videti, vrednost odnosa sile probijanja (N) između unutrašnje i spoljašnje frakcije svih izrađenih grupa kobasica je u većem delu perioda proizvodnje bila manja od 1, što znači da je čvrstoća, odnosno sila probijanja (N) uglavnom bila veća za spoljašnje frakcije kobasica. Naime, u prvih 15. dana proizvodnje vrednost posmatranog odnosa je intenzivno varirala u intervalu od 0,62, kolika vrednost je utvrđena za kobasice B4 grupe (15. dan) do vrednosti 1,40, utvrđene za kobasice E2 grupe nakon 2. dana proizvodnje. Dakle, u tom periodu su u više navrata registrovane vrednosti bile veće od 1, što ukazuje na činjenicu da su sile probijanja tada bile veće u unutrašnjim frakcijama. Ovaj podatak potvrđuje kompleksnost fenomena međusobnog

Tabela 5.30. Prosečne vrednosti sile probijanja (N) devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom 120 dana proizvodnje u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

Grupa	Vreme (dan)										120 V	120 M
	2	6	9	15	30	45	60	90	120			
A2	2,48 <sup>ab</sup>	1,85 <sup>c</sup>	2,25 <sup>a</sup>	1,78 <sup>b</sup>	3,25 <sup>a</sup>	-	5,65	7,70 <sup>bc,A</sup>	11,0 <sup>b,B</sup>	6,82 <sup>a,A</sup>	5,79 <sup>a,A</sup>	
	± 0,13	± 0,05	± 0,15	± 0,25	± 0,42	-	± 1,20	± 1,43	± 2,48	± 0,21	± 0,08	
B2	2,83 <sup>ac</sup>	3,02 <sup>a</sup>	2,54 <sup>a</sup>	2,53 <sup>ab</sup>	3,44 <sup>a</sup>	-	6,38	11,8 <sup>a,A</sup>	22,3 <sup>d,B</sup>	16,8 <sup>e,AB</sup>	17,1 <sup>c,AB</sup>	
	± 0,37	± 0,29	± 0,06	± 0,07	± 0,27	-	± 0,98	± 1,58	± 5,28	± 0,45	± 2,28	
B4	3,47 <sup>d</sup>	2,54 <sup>ab</sup>	3,52 <sup>b</sup>	3,25 <sup>a</sup>	4,61 <sup>abc</sup>	7,89 <sup>bc,A</sup>	-	19,0 <sup>B</sup>	34,0 <sup>ac,C</sup>	11,2 <sup>b,AB</sup>	11,9 <sup>b,AB</sup>	
	± 0,43	± 0,06	± 0,42	± 0,77	± 1,54	± 1,09	-	± 5,05	± 9,35	± 1,17	± 1,77	
C2	2,45 <sup>ab</sup>	2,80 <sup>ab</sup>	2,45 <sup>a</sup>	3,13 <sup>a</sup>	4,64 <sup>abc</sup>	-	6,23 <sup>b,A</sup>	-	9,07 <sup>b,C</sup>	6,67 <sup>a,A</sup>	4,55 <sup>a,B</sup>	
	± 0,30	± 0,10	± 0,40	± 0,57	± 0,79	-	± 0,93	-	± 0,59	± 0,62	± 0,38	
C3	2,00 <sup>b</sup>	2,25 <sup>bc</sup>	2,31 <sup>a</sup>	2,21 <sup>b</sup>	5,42 <sup>c</sup>	-	5,79 <sup>b,A</sup>	8,36 <sup>B</sup>	9,12 <sup>b,B</sup>	4,96 <sup>c,A</sup>	5,35 <sup>a,A</sup>	
	± 0,15	± 0,25	± 0,26	± 0,31	± 0,92	-	± 0,89	± 1,40	± 1,35	± 0,45	± 1,22	
D1	2,35 <sup>ab</sup>	2,46 <sup>ab</sup>	2,73 <sup>a</sup>	3,08 <sup>a</sup>	3,89 <sup>ab</sup>	-	8,18	12,4 <sup>a,A</sup>	26,4 <sup>cd,B</sup>	21,1 <sup>g,AB</sup>	-	
	± 0,20	± 0,24	± 0,14	± 0,31	± 0,28	-	± 1,52	± 1,54	± 7,50	± 0,92	-	
D2	2,86 <sup>ac</sup>	3,08 <sup>a</sup>	2,58 <sup>a</sup>	4,08 <sup>d</sup>	5,12 <sup>bc</sup>	-	7,84	11,4 <sup>a,A</sup>	41,4 <sup>a,B</sup>	15,4 <sup>d,A</sup>	-	
	± 0,35	± 0,44	± 0,35	± 0,51	± 0,13	-	± 0,98	± 2,06	± 12,1	± 0,78	-	
E1	3,17 <sup>cd</sup>	4,94 <sup>d</sup>	5,13 <sup>c</sup>	5,31 <sup>c</sup>	7,73 <sup>d</sup>	-	10,9 <sup>a,B</sup>	18,5 <sup>A</sup>	35,2 <sup>ac,C</sup>	18,7 <sup>f,A</sup>	-	
	± 0,09	± 0,75	± 0,70	± 0,65	± 0,20	-	± 2,31	± 3,96	± 4,58	± 1,39	-	
E2	3,49 <sup>d</sup>	5,42 <sup>d</sup>	6,22 <sup>d</sup>	5,36 <sup>c</sup>	8,59 <sup>d</sup>	-	10,3 <sup>a,A</sup>	22,5 <sup>B</sup>	39,4 <sup>a,C</sup>	11,1 <sup>b,A</sup>	-	
	± 0,58	± 0,21	± 0,79	± 0,44	± 1,15	-	± 0,63	± 2,65	± 0,22	± 0,59	-	

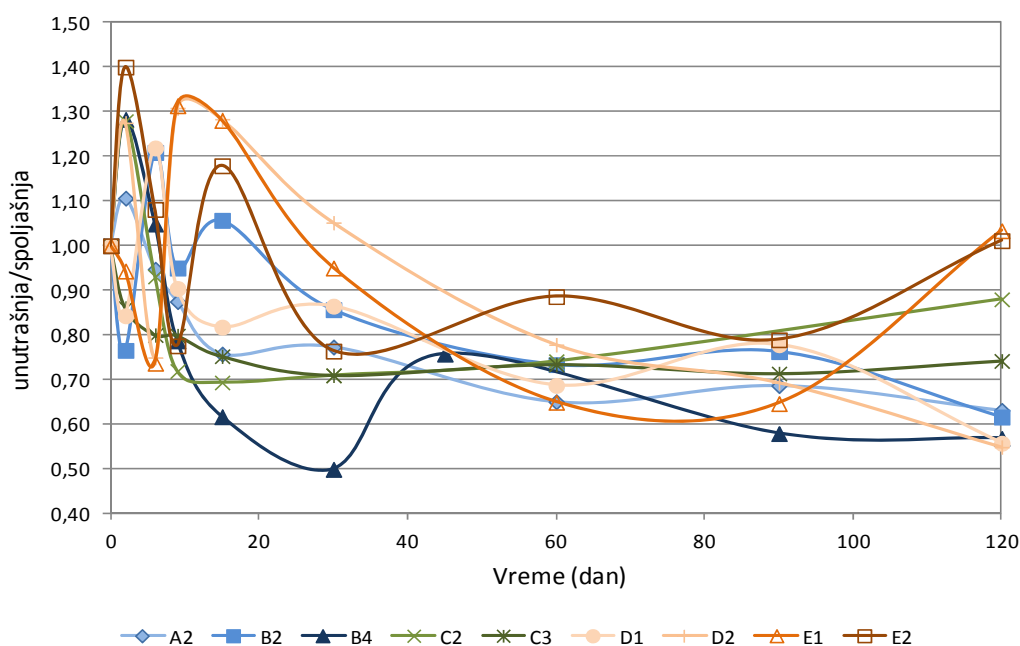
<sup>a-f</sup> - vrednosti sile probijanja označene različitim malim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ) između izrađenih grupa kobasica tokom prvog meseca proizvodnje (2–30. dana), na kraju procesa sušenja (45, 60. i 90. dana), kao i na kraju procesa proizvodnje (120. dana).

<sup>A-C</sup> - vrednosti sile probijanja označene različitim velikim slovima su statistički značajno različite ( $P < 0,05$ ), u okviru iste grupe, od kraja procesa sušenja (45, 60. i 90. dana) do kraja procesa proizvodnje (120. dana).

U tabeli je sivom bojom posebno označen kraj perioda sušenja za svaku izrađenu grupu kobasica.

V, M – kobasice koje su nakon završetka perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) i u modifikovanoj atmosferi (M) radi zrenja do 120. dana.

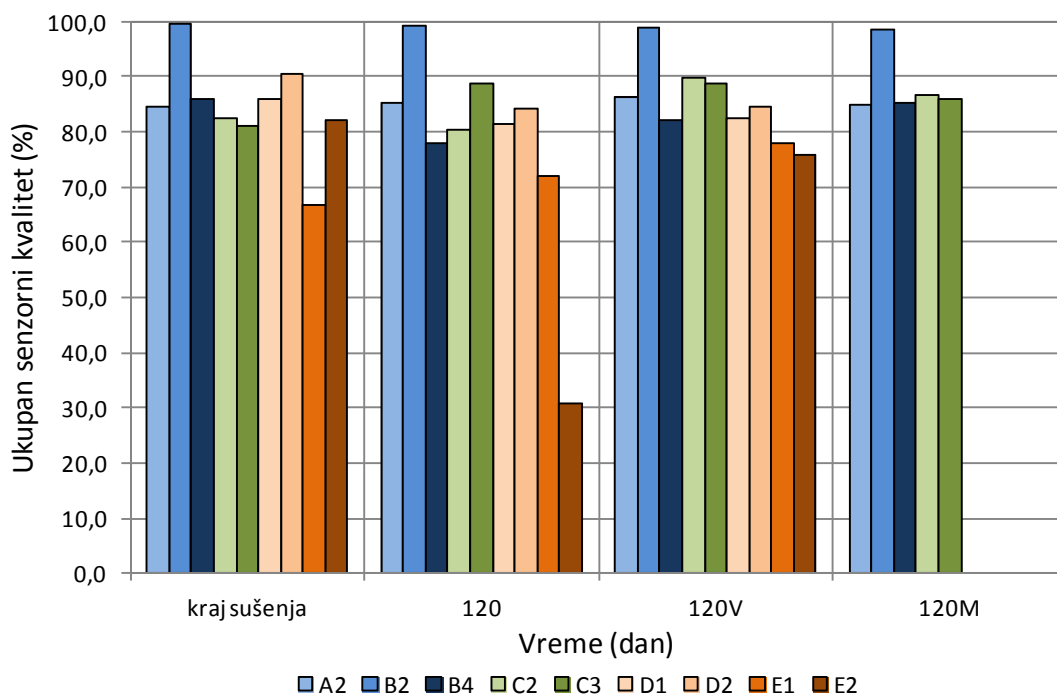
povezivanja partikula mišićnog i masnog tkiva nadeva, na koji utiče kako pad vrednosti pH i geliranje proteina, tako i izdvajanje vode iz kobasice. Kako se dalje na istom grafiku može videti, već 30. dana proizvodnje je odnos sile probijanja (N) između unutrašnje i spoljašnje frakcije kobasica svih izrađenih grupa bio manji od 1 (izuzev D2), sa izrazitim minimumom registrovanim za kobasice B4 grupe (0,50), što je bila i najmanja utvrđena vrednost posmatranog odnosa. Ova vrednost ukazuje na činjenicu da su usled intenzivnog sušenja spoljašnje frakcije kobasica B4 grupe 30. dana bile duplo čvršće od unutrašnjih. U narednom periodu, do 120. dana proizvodnje, posmatrani pokazatelj razlike čvrstoće između frakcija svih izrađenih grupa kobasica je varirao u mnogo užem intervalu (0,60 – 0,90). Na kraju procesa proizvodnje (120. dan), najviše vrednosti ovog odnosa su utvrđene za kobasice proizvedene u trećoj sezoni i sušene u kontrolisanim uslovima (E1 - 1,03 i E2 – 1,01), ukazujući na izjednačavanje sile probijanja (N) u različitim frakcijama. Nasuprot, kao posledica veće razlike u čvrstoći između unutrašnjih i spoljašnjih frakcija, za kobasice B4, D1 i D2 grupe su utvrđene najniže vrednosti posmatranog odnosa, koje su iznosile 0,57, 0,56 i 0,55, redom.



Grafik 5.17. Promene odnosa sile probijanja (N) u unutrašnjoj i spoljašnjoj frakciji devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* tokom dimljenja, sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima

### 5.2.C.2. SENZORNI KVALITET *PETROVAČKE KOBASICE*

Na grafiku 5.18. su prikazane promene ukupnog senzornog kvaliteta (%) devet izrađenih grupa kobasica od kraja procesa sušenja u tradicionalnim i industrijskim uslovima do 120. dana, kako neupakovanih, tako i kobasica upakovanih u vakuumu (V) i modifikovanoj atmosferi (M), tokom tri proizvodne sezone.



Grafik 5.18. Promene ukupnog senzornog kvaliteta (%) devet izrađenih grupa *Petrovačke kobasice* od kraja procesa sušenja do 120. dana, neupakovanih i kobasica upakovanih u vakuumu (V) i modifikovanoj atmosferi (M)

Kako se iz rezultata prikazanih na grafiku 5.18. može videti, posmatrani procenat ukupnog senzornog kvaliteta je na kraju procesa sušenja svih izrađenih grupa kobasica varirao u intervalu od 66,7%, kolika vrednost ovog pokazatelja je utvrđena za kobasice E1 grupe 60. dana proizvodnje, do 99,7%, koliko je utvrđeno za kobasice B2 grupe nakon 90 dana sušenja u tradicionalnim uslovima, što je bila i maksimalna utvrđena vrednost posmatranog pokazatelja u sve tri sezone. Takođe, na istom grafiku se može uočiti da su pored kobasica iz grupe B2 i kobasice ostale tri grupe sušene u tradicionalnim uslovima, tokom 90 dana, bile visoko senzorno ocenjene (A2 – 84,7%, D1 – 85,9% i D2 – 90,5%). Nakon 120 dana proizvodnje, ukupan senzorni kvalitet neupakovanih kobasica izrađenih u prvoj proizvodnoj sezoni je varirao u intervalu od 78,1% (B4) do 99,1% (B2), u drugoj od 80,4% (C2) do

88,8% (C3) i u trećoj sezoni izrade od 30,7% (E2) do 84,4% (D2). Kako se dalje na grafiku 5.18. može primetiti, oba primenjena načina pakovanja (vakuum (V) ili modifikovana atmosfera (M)) su doprinela očuvanju senzornih svojstava kobasica po završetku procesa sušenja. Tako je 120. dana posmatrani procenat ukupnog senzornog kvaliteta, komparativno posmatrano, uglavnom bio veći za kobasice koje su bile upakovane, što je posebno bilo izraženo u grupama koje su intenzivnije sušene (B4, E1 i E2). Vrednost ovog pokazatelja za kobasice upakovane u vakuumu je varirala od 76,0% (E2) do 98,8% (B2), a za one upakovane u modifikovanoj atmosferi od 85,2% (B4) do 98,5% (B2).

## 6. DISKUSIJA

Polazeći od činjenice da je zadatak ovog rada bio razvoj procesa sušenja i zrenja tradicionalne *Petrovačke kobasice* u kontrolisanim uslovima, tokom tri proizvodne sezone je izrađeno devet grupa ove kobasice kako bi se ispitaio uticaj vremena otkoštavanja mesa *post mortem* (toplo ili hladno meso), načina mešanja nadeva (ručno ili mašinski), uslova sušenja i zrenja (tradicionalni ili kontrolisani), dodatka komercijalne starter kulture, kao i uticaj načina pakovanja (u vakuumu i modifikovanoj atmosferi) na intenzitet i brzinu procesa sušenja i zrenja, a posledično i na kvalitet finalnih proizvoda. Namera je, dakle, bila da se variranjem navedenih proizvodnih faktora najpre uoči optimalni model izrade u tradicionalnim uslovima čiji rezultat je kobasica vrhunskog (zaštićenog) kvaliteta (Petrović i sar., 2007). Zatim, da se analizom tog procesa proizvodnje u tradicionalnim uslovima dođe do jasnih korelativnih odnosa između procesnih parametara, kvaliteta kobasice i svih pokazatelja kinetike fermentacije, sušenja i zrenja. Potom, da se na osnovu uočenih korelacija i stečenih znanja započne razvoj i implementacija tog modela u kontrolisanim uslovima zanatskog ili industrijskog objekta za preradu mesa, a čiji bi rezultat bili finalni proizvodi koji se odlikuju nutritivnim i senzornim kvalitetom identičnim onom utvrđenom u kobasicama izrađenim na tradicionalan način, prema optimalnom modelu.

Kako je već napomenuto u prethodnim poglavljima procesi sušenja i zrenja su izuzetno značajni za proizvodnju fermentisanih kobasica od kojih u najvećoj meri zavise ukupan kvalitet, bezbednost i održivost ovih proizvoda. Radi lakšeg razmatranja registrovani pokazatelji njihovog intenziteta i brzine su u okviru ove doktorske disertacije prikazani u dve odvojene grupe rezultata. Međutim, ovi procesi teku istovremeno, uzročno-posledično su vezani i neodvojivi su deo čitave grupe kompleksnih promena koje se dešavaju tokom izrade sušenih fermentisanih kobasica (Toldrá, 2002; 2006d; Toldrá i sar., 2007; Roseiro i sar., 2008; Toldrá i Aristoy, 2010; Vignolo i sar., 2010), te će i u narednom tekstu kao takvi biti posmatrani i analizirani.

Analizom rezultata dobijenih ispitivanjem osnovnih pokazatelja kinetike sušenja (Tabele 5.1 – 5.7. i Grafici 5.8 – 5.16) svih izrađenih grupa *Petrovačke kobasice*, tokom tri proizvodne sezone, može se dati odgovor na pitanje da li su registrovane razlike ovih pokazatelja između pojedinih grupa, kako na kraju procesa sušenja tako i na kraju ukupnog



procesa proizvodnje (120. dan), dominantno bile uslovljene sezonom izrade i termo-higrometrijskim uslovima u proizvodnim prostorijama ili su, i u kojoj meri, i drugi varirani procesni parametri ispoljili uticaj na ove pokazatelje.

Tokom procesa sušenja, usled prelaska vode iz kobasice u okolni vazduh, dolazi do smanjenja mase proizvoda. Ovaj gubitak mase (kalo) se izražava procentualno u odnosu na početnu masu proizvoda i predstavlja veoma značajan pokazatelj intenziteta i brzine sušenja kobasica. Ukoliko se pogledaju rezultati dobijeni određivanjem gubitka mase tokom sušenja devet eksperimentalnih grupa *Petrovačke kobasice* (Tabela 5.1) može se videti da su sve izrađene kobasice do kraja predviđenog perioda sušenja izgubile veliki deo svoje početne mase. Međutim, značajno veće vrednosti ( $P < 0,05$ ) ovog pokazatelja su na kraju procesa sušenja registrovane za kobasice izrađene u trećoj proizvodnoj sezoni (prosek  $45,1 \pm 0,47\%$ ), u odnosu na one izrađene u prvoj (prosek  $37,7 \pm 1,27\%$ ), odnosno u drugoj (prosek  $34,5 \pm 1,77\%$ ) sezoni. Naime, kako bi se ispitala mogućnost produžetka sezone izrade ove kobasice van uobičajenog perioda proizvodnje u tradicionalnim uslovima (decembar – april), nadev za kobasice u trećoj proizvodnoj sezoni je izrađen dva meseca kasnije (februar). Uz pretpostavku da će drugačije spoljašnje klimatske prilike, a pre svega viša temperatura u periodu februar – maj, uticati na rast i razvoj nešto drugačije endogene mikroflore u polovinu izrađenog nadeva je dodata komercijalna starter kultura koja je po sastavu bila slična onoj izolovanoj iz kobasica B2 grupe u prvoj proizvodnoj sezoni. Na osnovu rezultata prikazanih na grafiku 5.6. i 5.7. i u tabeli 5.1. na prvi pogled se može zaključiti da je veliki gubitak mase kobasica D1, D2, E1 i E2 grupe prvenstveno posledica termo-higrometrijskih uslova u prostorijama za sušenje, koji su uslovlili veoma brz proces spoljašnje, a posledično i unutrašnje difuzije vlage. Takođe, može se videti da dodatak bakterijske starter kulture nije imao uticaja na gubitak mase kobasica, s obzirom da između vrednosti ovog pokazatelja utvrđenih za kobasice izrađene sa i bez startera nije utvrđena statistički značajna razlika ( $P > 0,05$ ) na kraju procesa sušenja, niti na kraju ukupnog perioda proizvodnje (120. dan). Pored odgovarajućih termo-higrometrijskih uslova, veliki gubitak mase kobasica izrađenih u trećoj sezoni je takođe posledica smanjenog sadržaja masti u osnovnoj formulaciji sirovog nadeva. Naime, sadržaj masti utvrđen u nadevu izrađenom u trećoj proizvodnoj sezoni je iznosio  $\approx 14\%$  (rezultati nisu prikazani), što je za oko 5% manje nego što je preporučeno kriterijumom\* Dobre Proizvođačke Prakse (DPP). Papadima i Bloukas (1999) su takođe uočili značajno veći gubitak mase tokom sušenja tradicionalne grčke kobasice sa smanjenim sadržajem masti.

\* Neautorizovani kriterijumi dati članovima ZZ „Kulen“ kao preporuka za standardizaciju sastava nadeva, radi ostvarenja zahteva kvaliteta datih u Tehnološkom elaboratu (Petrović i sar., 2007).

Dodatno, kobasice E1 i E2 grupe, sušene u kontrolisanim uslovima su još intenzivnije gubile vodu (masu), što je najverovatnije bila posledica nešto više temperature ( $\approx 15^{\circ}\text{C}$ ) tokom procesa dimljenja (Grafik 5.7), koja je uslovlila intenzivniji proces fermentacije, odnosno brži pad vrednosti pH u oblast izoelektrične tačke aktomiozina ( $\approx 5,0$ ) (Tabela 5.4). Kao što je već ranije napomenuto, u oblasti IET proteini mesa imaju najmanju moć vezivanja vode (Hamm, 1972; 1974; Rede i Petrović, 1997, Papadima i Bloukas, 1999; Huff-Lonergan, 2010; Warriss, 2010). Slične vrednosti gubitka mase su utvrđene u portugalskoj kobasici *Painho de Portalegre* (Roseiro i sar., 2008) i, kako je već napomenuto, u grčkoj tradicionalnoj kobasici sa približno istim sadržajem masti (Papadima i Bloukas, 1999). Što se tiče kobasica izrađenih u prvoj sezoni od toplog (A2) i hladnog (B2) mesa i sušenih u tradicionalnim uslovima domaćinstava A i B do 90. dana može se videti da su imale veći gubitak mase u poređenju sa kobasicama grupe B4 koje su sušene 45 dana u kontrolisanim uslovima industrijskog objekta za preradu mesa. Međutim, ako se uporede vrednosti ovog parametra u istim vremenskim periodima proizvodnje može se zaključiti da su kobasice B4 grupe znatno intenzivnije sušene, odnosno da su parametri vazduha u industrijskoj komori bili podešeni tako da promovišu brži proces sušenja (Grafik 5.3. i 5.4), kako bi se skratio ukupan period proizvodnje (Arnau i sar., 2007). Takođe, može se uočiti da je gubitak mase kobasica grupe C3 (35,7%), izrađenih mašinskim mešanjem nadeva, na kraju procesa sušenja bio značajno veći ( $P < 0,05$ ) od onog utvrđenog za kobasice grupe C2 (33,2%), čiji nadev je ručno mešan, iako je oba slučaja proces sušenja tekao pri istim termo-higrometrijskim uslovima (Grafik 5.5), koji su bili podešeni tako da obezbede odgovarajući sadržaj vlage u kobasicama ( $< 35\%$ ) nakon  $\approx 60$  dana. Objašnjenje ovakve pojave bi se sa jedne strane, ponovo moglo potražiti u činjenici da je vrednost pH u kobasicama C3 grupe brže opala do oblasti IET, a sa druge strane ručno mešanje nadeva C2, na tradicionalan način, je verovatno uslovlilo bolju SVV proteina mesa u kobasicama te grupe. Vrednosti gubitka mase tokom sušenja, slične ovim registrovanim za uzorke *Petrovačke kobasice*, izrađene tokom prve i druge sezone, utvrđene su za više evropskih fermentisanih kobasica, poput italijanske *Felino* i sicilijanske salame (Bianchi i sar., 1974; Moretti i sar., 2004), portugalske *Chouriço Grosso de Estremoz e Borba* (Roseiro i sar., 2010) ili nemačkih *Göttinger Feldgieker* i *Eichsfelder Feldgieker* (Lücke i Vogeley, 2012).

Po završetku procesa sušenja, kobasice koje su neupakovane čuvane do 120. dana radi zrenja, dodatno su izgubile masu sušenjem (Tabela 5.1), a utvrđene vrednosti ovog pokazatelja su varirale od 40,4% (C2) do 52,0% (E2). Ovako visoka vrednost gubitka mase

sušenjem je imala negativan uticaj na neka fizičko-hemijska i senzorna svojstva većine izrađenih grupa kobasica, a posebno na silu probijanja, odnosno teksturu i sočnost (Tabela 5.30. i Grafici 5.17. i 5.18). Takođe, ovaj dodatni gubitak mase bi, pored uticaja na ukupni kvalitet proizvoda, mogao da ima i negativan uticaj na ekonomski efekat i rentabilnost buduće proizvodnje *Petrovačke kobasice*, te je na ovaj način potvrđena neophodnost pakovanja kobasica odmah po postizanju željenog gubitka mase, odnosno sadržaja vlage u kobasicama. Naime, na osnovu prethodnih rezultata ispitivanja sušenja i zrenja *Petrovačke kobasice* u tradicionalnim uslovima, dobijenih u periodu definisanja kvaliteta radi zaštite geografskog porekla (Petrović i sar., 2007; Ikonić i sar., 2010), dinamika sušenja kobasica treba da bude takva da nakon 90 dana proizvodnje rezultira gubitkom mase koji se kreće u intervalu između 35 i 40% računato na početnu masu, a u zavisnosti od vrste i dijametra omotača. Sličnu vrednost gubitka mase treba postići i u kontrolisanim uslovima, ali za 60 dana. Pored daljeg sušenja pakovanjem se sprečava i lipidna oksidacija, čiji produkti mogu imati negativan efekat na senzorni kvalitet i bezbednost proizvoda (Rubio i sar., 2007; Summo i sar., 2010; Krkić i sar., 2013).

Tokom sušenja, usled izdvajanja vode, pored gubitka mase kobasica dolazi i do smanjenja njihovog dijametra. U zavisnosti od brzine i intenziteta sušenja menja se i prečnik kobasica, te i ova fizička veličina može poslužiti kao pokazatelj kinetike sušenja proizvoda. Ukoliko se pogledaju rezultati dobijeni merenjem prečnika kobasica u različitim periodima procesa sušenja i zrenja (Tabela 5.2. i Grafik 5.8) vidi se da su kobasice svih eksperimentalnih grupa tokom procesa proizvodnje doživele značajnu redukciju dijametra, te da se vrednost tog pokazatelja, izražena procentualno u odnosu na početnu veličinu, na kraju procesa sušenja kretala u intervalu od 12,1%(C2) do 22,1% (D2), a 120. dana od 16,9% (C2) do 25,9% (B4). Kada se rezultati vezani za smanjenje dijametra uporede sa već predočenim rezultatima gubitka mase kobasica tokom sušenja, može se uočiti potpuno slaganje i podudarnost. Naime, za kobasice D2 grupe, koje su na kraju perioda sušenja imale najveći gubitak mase (45,6%), utvrđena je i najveća vrednost smanjenja dijametra (22,1%), dok su kobasice C2 grupe sa najmanjim gubitkom mase (33,2%) imale i najmanju redukciju prečnika (12,1%). Sličan odnos ove dve veličine je utvrđen i nakon 120. dana za neupakovane kobasice, kada je dodatno smanjenje mase kobasica izazvalo i odgovarajuće smanjenje dijametra. Nasuprot, prečnik kobasica koje su po završetku procesa sušenja upakovane u vakuumu ili modifikovanoj atmosferi je u većini slučajeva ostao na nivou vrednosti ovog parametra utvrđenim neposredno pre pakovanja. Međutim, iako je pakovanjem zaustavljeno dalje

sušenje određena redukcija dijametra, verovatno uslovljena hidrolizom proteina i masti (homogenizacija nadeva) tokom perioda zrenja, je ipak registrovana, ali nastale promene u većini slučajeva nisu bile statistički značajne ( $P > 0,05$ ).

Kao posledica izdvajanja vode tokom sušenja u kobasicama svih eksperimentalnih grupa je došlo do pada aktivnosti vode ( $a_w$ ), od početne vrednosti, koja se kretala u intervalu 0,95 - 0,97, do vrednosti koje su u zavisnosti od dužine i intenziteta sušenja varirale od 0,86, kolika  $a_w$  je utvrđena u obe grupe kobasica sušenih 90 dana u uslovima domaćinstva D, do 0,91 kolika vrednost ovog parametra je utvrđena u kobasicama grupa B4, C2 i C3, nakon 45, odnosno 60 dana sušenja u kontrolisanim uslovima. Bez obzira na značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između  $a_w$  vrednosti kobasica različitih eksperimentalnih grupa na kraju predviđenog perioda sušenja, sve utvrđene vrednosti su bile u uobičajenom opsegu vrednosti posmatranog parametra za različite evropske fermentisane kobasice (Papadima i Bloukas, 1999; Aquilanti i sar., 2007; Dalmis i Soyer, 2008; Di Cagno i sar., 2008; Roseiro i sar., 2008; 2010; Talon i sar., 2008; Spaziani i sar., 2009). S obzirom da se  $a_w$  vrednost kobasica tokom sušenja menja obrnuto proporcionalno u odnosu na porast gubitka mase (kalo), slična razmatranja uticaja različitih varijabilnih faktora se mogu primeniti i u ovom slučaju. Kobasice A2 i B2 grupe, proizvedene u prvoj proizvodnoj sezoni, su nakon 90 dana sušenja u tradicionalnim uslovima imale vrednost aktivnosti vode od 0,89. Relativno visoka vrednost  $a_w$  na kraju procesa sušenja ovih kobasica je bila posledica ambijentalnih uslova u tradicionalnim prostorijama za dimljenje, sušenje i zrenje, koje je naročito u prva dva meseca karakterisala niska temperatura i visoka RV vazduha (Grafik 5.1. i 5.2). Takvi parametri vazduha su zbog male potencijalne snage, odnosno male razlike parcijalnih pritisaka vodene pare u vazduhu i na površini kobasice, rezultirali laganim isparavanjem vode sa površine proizvoda (spoljašnja difuzija), a posledično i niskim intenzitetom unutrašnje difuzije vlage. Generalno, niska ambijentalna temperatura je uticala na sporiji rast i razvoj autohtonih BMK *Petrovačke kobasice*, te je i intenzitet procesa fermentacije bio smanjen (Danilović i sar., 2011; Danilović, 2012), što je očito uticalo da proces fermentacije u ovim kobasicama bude prolongiran, odnosno da pad vrednosti pH bude veoma mali. Kako se u tabeli 5.4. može videti minimalne vrednosti ovog pokazatelja u kobasicama A2 i B2 grupe su dostignute tek nakon 60 dana proizvodnje, a iznosile su 5,3 i 5,4, redom. Međutim, ipak se mogu uočiti i određene razlike u trendu promene vrednosti pH ove dve grupe kobasica, što je verovatno uticalo na nešto drugačiji tok sušenja, kao i konačni kvalitet kobasica, o čemu će još biti reči. Isti uticaj niske temperature na proces fermentacije i posledično na pad vrednosti pH su prethodno utvrdili Bover-Cid i

sar. (2001), Rason i sar. (2007), kao i Lorenzo i sar. (2012) ispitujući različite suve fermentisane proizvode od mesa. Dakle, relativno visoka vrednost  $a_w$  na kraju procesa sušenja kobasica A2 i B2 grupe je pored termo-higrometrijskih uslova u proizvodnim prostorijama bila zasigurno uslovljena i veoma malim padom vrednosti pH, koja ni u jednom momentu nije dostigla vrednost izoelektrične tačke proteina mesa ( $\approx 5,0$ ), te nije došlo do velikog smanjenja sposobnosti vezivanja vode proteina u tim kobasicama. Nasuprot kobasicama A2 i B2 grupe, treća grupa kobasica proizvedenih u prvoj proizvodnoj sezoni (B4 grupa) je mnogo intenzivnije sušena, pri termo-higrometrijskim uslovima koji promovisu taj proces (Grafik 5.3. i 5.4), te je  $a_w$  vrednost u tim kobasicama već nakon 45. dana iznosila 0,91 (kraj procesa sušenja), iako je vrednost pH u ovim proizvodima takođe ostala relativno visoka (minimalno 5,27 – 30. dana proizvodnje).

Kada se komparativno posmatraju  $a_w$  vrednosti kobasica proizvedenih u različitim proizvodnim sezonama može se videti da su najmanje vrednosti ovog parametra registrovane za sve četiri grupe kobasica u trećoj sezoni. Tako je  $a_w$  vrednost kobasica D1 i D2 grupe iznosila 0,86 i bila značajno manja ( $P < 0,05$ ) od  $a_w$  vrednosti kobasica A2 i B2 grupe, iako su u oba slučaja kobasice sušene 90 dana u tradicionalnim uslovima. Međutim, ukoliko se pogledaju  $a_w$  vrednosti ove četiri grupe kobasica 60. dana proizvodnje, može se videti da su one tada bile vrlo ujednačene i da su iznosile 0,90 - 0,91. Dakle, očito je da su u ovom slučaju ambijentalni uslovi u proizvodnim prostorijama domaćinstva D, od 60. do 90. dana, doveli do značajnog sušenja (gubitka vlage), odnosno smanjenja aktivnosti vode u kobasicama grupa D1 i D2. Kako se na grafiku 5.6. može videti, oko 63. dana je došlo do porasta temperature vazduha u prostoriji za sušenje i zrenje domaćinstva D do vrednosti od približno 9°C. Međutim, u više navrata tokom tog perioda su registrovani veliki skokovi temperature do vrednosti koje su se kretale u intervalu od  $\approx 16$  do  $\approx 20$ °C. Ovakvo kretanje temperature je nedvosmisleno uticalo na intenzivnije sušenje kobasica D1 i D2 grupe u tom periodu, odnosno smanjenje  $a_w$  vrednosti, s obzirom da povišena temperatura utiče na povećanje intenziteta spoljašnje i unutrašnje difuzije vlage (Stepanov i Tojagić, 1969; Andrés i sar., 2007; Petrović, 2012). Ukoliko se slično poređenje vrednosti  $a_w$  izvrši za grupe kobasica koje su 60 dana sušene u kontrolisanim uslovima zanatskog/industrijskog objekta za preradu mesa (2. i 3. sezona), može se uočiti da su kobasice E1 i E2 grupe imale značajno manju ( $P < 0,05$ ) vrednost  $a_w$  (0,87) u odnosu na onu registrovanu u kobasicama C2 i C3 grupe (0,91). Međutim, kada se pogledaju vrednosti aktivnosti vode ovih grupa kobasica 30. dana proizvodnje, uočava se da su one u tom periodu bile vrlo ujednačene, te da su iznosile 0,91-

0,92. Dakle, nameće se zaključak da su kobasice E1 i E2 grupe u periodu od 30. do 60. dana izgubile veliku količinu vode, što je rezultiralo značajnim padom vrednosti  $a_w$ . Razlog navedene pojave se mora ponovo potražiti u termo-higrometrijskim uslovima komore za sušenje i zrenje u IM Topola. Naime, na grafiku 5.7. se može videti da je temperatura u komori delimično porasla 30. dana, te da je varirala u širem opsegu vrednosti, često dostižući  $\approx 12^\circ\text{C}$ . U istom periodu RV vazduha u komori je iznosila  $\approx 85\%$ , te se može pretpostaviti da je ipak nešto viša temperatura izazvala brže sušenje kobasica E1 i E2 grupe. Dodatno, pri ovom razmatranju treba imati u vidu i veliku razliku u početnom sadržaju masti između kobasica C2 i C3 grupe sa jedne strane ( $\approx 22\%$ ), i kobasica E1 i E2 grupe sa druge ( $\approx 14\%$ ), koja je uslovlila različitu evoluciju gubitka mase i vrednosti  $a_w$  u ovim proizvodima, odnosno brže sušenje kobasica izrađenih u trećoj sezoni izrade.

Po završetku procesa sušenja, kobasice koje su neupakovane čuvane do 120. dana radi zrenja su dodatno izgubile vlagu, te je i  $a_w$  vrednost u njima dodatno opala. Najmanja vrednost  $a_w$  (0,78) na kraju procesa proizvodnje (120. dan) je registrovana u kobasicama E1 i E2 grupe. Iako je u pitanju vrlo mala vrednost ovog parametra, istu aktivnost vode u tradicionalnoj iberijskoj kobasici *Salchichón* su utvrdili Casquete i sar. (2011) nakon 90 dana sušenja, dok su Lücke i Vogeley (2012) u tradicionalnoj kobasici *Göttinger Stracke*, iz centralne Nemačke odredili još manju  $a_w$  vrednost od svega 0,75. U isto vreme, najveća aktivnost vode je registrovana u kobasicama A2, B2 i C2 grupe (0,85 - 0,86), dok su u kobasicama B4, C3, D1 i D2 grupe registrovane vrednosti  $a_w$  koje su bile za 0,3 - 0,5 jedinica manje. Vrednosti  $a_w$  u rasponu od 0,82 do 0,86 su utvrđene u velikom broju suvih fermentisanih kobasica iz Italije (Moretti i sar., 2004; Casaburi i sar., 2007), Portugala (Roseiro i sar., 2008), Španije (Casquete i sar., 2011; Lorenzo i sar., 2012; Martín-Sánchez i sar., 2011) i Francuske (Lebert i sar., 2007a; Talon i sar., 2008). Kako se iz rezultata prikazanih u tabeli 5.3. može videti kobasice A2 i B2 grupe su na kraju četvrtog meseca proizvodnje imale značajno veće vrednosti  $a_w$  od kobasica iz grupe B4, potvrđujući još jednom tezu da termo-higrometrijski uslovi u tradicionalnim prostorijama za dimljenje, sušenje i zrenje u Bačkom Petrovcu omogućavaju spor proces sušenja kobasica koji traje najmanje 90 dana (Petrović i sar., 2007, Ikonić i sar., 2010). Kada su u pitanju kobasice proizvedene u drugoj sezoni može se videti da je uticaj različitog načina mešanja nadeva došao do izražaja tek nakon 60. dana proizvodnje, te su kobasice C2 grupe 120. dana imale značajno veću ( $P < 0,05$ )  $a_w$  vrednost (0,86) od kobasica C3 grupe (0,82), što je kako je već navedeno, verovatno bilo uzrokovano tradicionalnim postupkom ručnog mešanja nadeva koji

je rezultirao većom SVV proteina mesa u kobasicama te grupe. Uočene razlike aktivnosti vode između grupa kobasica izrađenih u trećoj sezoni su uglavnom posledica različitih uslova sušenja (tradicionalni ili kontrolisani), dok prisustvo komercijalne starter kulture (D2 i E2) nije imalo tako jasno uočljiv uticaj na vrednost ovog parametra.

Aktivnost vode u kobasicama koje su po završetku procesa sušenja upakovane u vakuumu (V) ili modifikovanoj atmosferi (M) je na kraju procesa proizvodnje (120. dan) za većinu grupa bila ista ili slična onoj utvrđenoj u kobasicama neposredno pre pakovanja. Ovaj podatak je očekivan i logičan ako se uzme u obzir da se pakovanjanjem prvenstveno sprečava dalje sušenje kobasica (Vuković, 2006; Liaros i sar., 2009; Summo i sar., 2010). Međutim, u kobasicama C3 grupe je i nakon pakovanja došlo do značajnog pada  $a_w$  vrednosti od 0,91 do 0,87 ( $P < 0,05$ ), što je najverovatnije posledica hidrolitičkih procesa koji mogu izazvati mikrostrukturne promene i solibilizaciju proteinskih fragmenata, te pregrupisanje, odnosno vezivanje (imobilizaciju) slobodne vode (Hamm, 1972; Martín-Sánchez i sar., 2011).

S obzirom da su prethodno razmatrani pokazatelji (gubitak mase, smanjenje dijametra, vrednost  $a_w$ ) direktna posledica izdvajanja vode iz kobasica tokom procesa sušenja, rezultati ukupnog sadržaja vlage (%) u kobasicama devet eksperimentalnih grupa prikazani u tabeli 5.5. neće biti posebno detaljno komentarisani kako bi se izbegla nepotrebna ponavljanja. Ono što ipak treba napomenuti na ovom mestu je odgovarajuće slaganje prikazanih rezultata za ukupan sadržaj vode u kobasicama na kraju procesa sušenja, odnosno na kraju procesa proizvodnje, sa prikazanim rezultatima gubitka mase (kala), redukcije dijametra i smanjenja vrednosti  $a_w$  tokom sušenja. Tako su npr. kobasice E1 i E2 grupe na kraju procesa proizvodnje (120. dan) imale najmanji sadržaj vode od 20,6 i 19,8%, redom, što je u saglasnosti sa najvećim utvrđenim gubitkom mase od 51,1 i 52,0%, redom, velikom redukcijom dijametra od 23,7 i 24,75, redom, odnosno sa najmanjom vrednosti aktivnosti vode od svega 0,78.

Razlike u procesnim parametrima vazduha (temperatura, relativna vlažnost), koje su evidentno postojale tokom procesa sušenja kobasica devet ispitanih grupa, rezultirale su različitim intenzitetima unutrašnje i spoljašnje difuzije vode, a posledično i različitim sadržajem vlage u unutrašnjim i spoljašnjim frakcijama proizvoda. Promena odnosa sadržaja vode, u ovim koncentričnim frakcijama, u funkciji od vremena može biti odgovarajući pokazatelj intenziteta i brzine sušenja kobasica (Grafik 5.10) (Baldini i sar., 2000). Naime, u idealnom slučaju, unutrašnja i spoljašnja difuzija vlage bi trebala da se odvija istom brzinom, te bi i sadržaj vode u koncentričnim frakcijama trebao da bude isti, tj. pomenuti odnos

sadržaja vode bi trebao da bude jednak jedinici. To u realnim uslovima nikada nije slučaj, a odstupanje odnosa sadržaja vlage u frakcijama od vrednosti 1 je pokazatelj odstupanja primenjenog načina sušenja od idealnog. Na grafiku 5.10. se može videti da je vrednost odnosa sadržaja vode između frakcija uvek bila veća od 1, što znači da je sadržaj vode tokom čitavog perioda sušenja bio veći u unutrašnjim frakcijama kobasica svih eksperimentalnih grupa. Na osnovu tog podatka moguće je izvesti zaključak da je sušenje bilo značajnije u spoljašnjim frakcijama u odnosu na unutrašnje. Do istog zaključka su prethodno došli Baldini i sar. (2000) ispitujući sadržaj vlage u spoljašnjoj i unutrašnjoj frakciji ukupno šest fermentisnih kobasica prečnika od 55 do 100 mm (po dve iz Italije, Francuske i Španije). Ova pojava je posebno bila izražena u kobasicama B4 grupe tokom prvih 30 dana sušenja u kontrolisanim uslovima, kada je vrednost posmatranog odnosa dostigla maksimum (1,71). Naime, parametri vazduha u industrijskoj komori tokom proizvodnje kobasica B4 grupe (Grafik 5.4) su bili podešeni tako da promovišu brži proces sušenja, odnosno isparavanja vode sa površine kobasica (niska RV vazduha i relativno velika brzina strujanja vazduha – rezultat nije prikazan). Nakon 30 dana od početka procesa, iz površinskog sloja kobasica je verovatno isparila sva slobodna voda, te je formiran periferni rub („prsten“) koji je usporio dalje sušenje. U takvim situacijama proces sušenja postaje „iznutra kontrolisan“, odnosno njegova brzina isključivo zavisi od brzine unutrašnje difuzije vlage od centra ka površini (Comaposada, 1999; Andrés i sar., 2007). U narednom periodu od 90 dana brzina strujanja vazduha u komori je svedena na minimum, a voda je zahvaljujući koncentracionom gradientu migrirala od centra ka periferiji, te je odnos sadržaja vlage u koncentričnim frakcijama kobasice opao do vrednosti 1,15. No, biće interesantno u nastavku razmotriti da li je ovo formiranje suvog perifernog ruba, u prvih 30 dana sušenja, bilo praćeno i denaturacijom proteina, i u kom stepenu je ta pojava uticala na smanjenje ukupnog kvaliteta ove grupe kobasica.

Nasuprot kobasicama grupe B4, druge dve grupe kobasica proizvedenih u istoj proizvodnoj sezoni su sušene na potpuno drugačiji način. Naime, termo-higrometrijski uslovi u tradicionalnim prostorijama su diktirali znatno sporiji model sušenja kobasica A2 i B2 grupe. Na graficima 5.1. i 5.2. se može videti da su niska temperatura i visoka RV vazduha tokom prvih 40 dana proizvodnje rezultirale niskim intezitetom spoljašnje difuzije vlage, a posledično i sporim porastom vrednosti odnosa sadržaja vode u koncentričnim frakcijama kobasica. Kako je proizvodna sezona odmicala, usled spoljašnjih klimatskih prilika (mesec mart), parametri vazduha u tradicionalnim prostorijama za sušenje su se menjali. Temperatura je postepeno rasla, a RV vazduha je opadala, što je izazvalo intenzivnije isparavanje vode sa



površine kobasice, odnosno jače isušivanje spoljašnjih frakcija. Otuda je vrednost odnosa sadržaja vlage u frakcijama kobasica A2 i B2 rasla do 90. dana, kada je iznosila 1,58 i 1,43, redom (Grafik 5.10). Nakon tri meseca sušenja u tradicionalnim prostorijama kobasice su smeštene u komoru sa kontrolisanim uslovima (10°C, 74% RV) radi zrenja do 120. dana. U tom periodu je došlo do pada vrednosti posmatranog odnosa, što je ukazivalo na lagano izjednačavanje sadržaja vlage između frakcija kobasica.

Kako se na grafiku 5.10. dalje može videti, porast vrednosti odnosa sadržaja vlage u koncentričnim frakcijama kobasica C2 i C3 grupe je bio intenzivniji u odnosu na onaj utvrđen za tradicionalno sušene kobasice A2 i B2 grupe. Ova pojava je posebno bila izražena u kobasicama C3 grupe, gde je ovaj odnos u toku prvih 6 dana proizvodnje (dimljenje) naglo porastao do vrednosti 1,35, da bi zatim delimično opao, te opet počeo da raste dostižući svoj maksimum 60. dana proizvodnje (1,58). Ovakvo kretanje vrednosti posmatranog odnosa je najverovatnije posledica nešto više temperature, odnosno niže RV vazduha tokom procesa dimljenja. Takvi parametri vazduha su izazvali intenzivno isparavanje vode sa površine kobasice (spoljašnja difuzija), odnosno isušivanje spoljašnje frakcije. Nakon završenog procesa dimljenja kobasice su prenete u prostoriju sa nižom temperaturom i višom RV, te je intenzitet spoljašnje difuzije smanjen. Potom je deo naglo izdvojene vlage iz površinskog sloja nadomešten vodom koja migrira iz centra ka periferiji, a razlika u koncentraciji vlage između koncentričnih frakcija smanjena. Posledica te pojave je bilo delimično smanjenje vrednosti posmatranog odnosa, koji je zatim ponovo počeo da raste do kraja procesa sušenja (60. dan) kada je dostigao maksimalnu vrednost od 1,58, te ponovo opao do vrednosti 1,42 registrovane 120. dana. Kako se dalje na istom grafiku može videti, kobasice C2 grupe su gubile vodu na sasvim dugačiji način, iako su sušene pri istim termo-higrometrijskim uslovima. Na osnovu prikazanog rezultata se zaključuje da je ručni način mešanja nadeva uticao na tok sušenja tako što je voda sporije prelazila u okolni vazduh, te nije došlo do intenzivnog isušivanja spoljašnje frakcije. Maksimalna vrednost odnosa vlage u frakcijama (1,43) je postignuta nakon 30 dana, a zatim je usledio pad do 120. dana. Ovaj rezultat je još jednom potvrdio kompleksnost faktora koji utiču na proces sušenja, tj. prenos vlage, kako spolja, tako i unutar kobasice.

Dalje se iz rezultata prikazanih na grafiku 5.10. može videti da je promena vrednosti odnosa sadržaja vlage u frakcijama kobasica sve četiri grupe izrađene u trećoj sezoni tekla različito tokom 120 dana proizvodnje. Naime, posmatrani odnos je u kobasicama D1 varirao tokom dimljenja, da bi nakon 15. dana konstantno ali lagano rastao do vrednosti 1,35,

registrovane 60. dana. Slična vrednost posmatranog odnosa (1,36) je registrovana i na kraju procesa sušenja (90. dan), nakon čega je delimično opala ukazujući na izjednačavanje sadržaja vlage između frakcija. U kobasicama D2 grupe je nakon dimljenja došlo do intenzivnijeg porasta odnosa sadržaja vlage u frakcijama, te je vrednost ovog pokazatelja već nakon 30 dana dostigla svoj maksimum od 1,48. U tabeli 5.5. se može uočiti da je ukupan sadržaj vlage u kobasicama D1 i D2 bio praktično isti tokom čitavog procesa, te je prethodni rezultat najverovatnije posledica drugačije raspodele vlage u kobasicama sa nešto nižom vrednosti pH, izrađenim uz dodatak starter kulture. Na grafiku 5.10. se takođe može videti da je za kobasice sušene u industriji (E1 i E2) registrovano značajno variranje vrednosti odnosa sadržaja vlage u frakcijama, koje se podudara sa promenama parametara vazduha u prostorijama za sušenje (Grafik 5.7). Ova pojava je posebno bila izražena za kobasice E2 grupe, izrađene uz dodatak starter kulture. Naime, u ovim kobasicama je od 15. do 30. dana utvrđen intenzivan porast posmatranog pokazatelja (1,51), koji je najverovatnije bio posledica nešto niže RV vazduha registrovane od kraja procesa dimljenja do 30. dana (prosečno 71,5%). U narednom periodu, do 65. dana, RV vazduha je ponovo narasla i varirala oko vrednosti 82%, te je odnos sadržaja vlage opao kao posledica sporijeg procesa spoljašnje difuzije vlage. Kako se dalje može videti na grafiku 5.7, parametri vazduha u komori za zrenje su nakon 65. dana ponovo delovali promotivno na proces sušenja ( $\approx 65\%$  RV i  $\approx 15^{\circ}\text{C}$ ), te je vrednost posmatranog pokazatelja narasla do 1,61, ukazujući na dodatno isušivanje spoljašnje frakcije kobasica.

Po završetku procesa sušenja kobasice su u vakuumu i/ili modifikovanoj atmosferi upakovane u visokobarijernu polimernu foliju, usled čega je došlo do prekida spoljašnje difuzije vlage. Međutim, kao rezultat koncentracionog gradijenta, voda je nastavila da difunduje od centra ka perifernim delovima kobasice, težeći da izjednači svoj sadržaj u svim njenim delovima (Comaposada, 1999; Babić i Babić, 2000; Paunović, 2010). Posledično, vrednost odnosa sadržaja vlage između koncentričnih frakcija je opala od momenta pakovanja do 120. dana (Grafik 5.11. i 5.12).

Tokom procesa sušenja, usled izdvajanja vode iz kobasica, došlo je do porasta relativnog sadržaja suve materije u kobasicama svih izrađenih grupa, pa tako i do povećanja udela ukupnog pepela (Tabela 5.6). Prikazani rezultati za sadržaj ukupnog pepela, kako na kraju procesa sušenja (3,84 – 5,06%), tako i na kraju ukupnog procesa proizvodnje (4,37 – 5,50%), su u saglasnosti sa pokazateljima intenziteta sušenja, odnosno količine izdvojene vlage iz kobasica (gubitak mase, smanjenje dijametra, vrednost  $a_w$ , sadržaj vlage). Tako je,

komparativno posmatrano, usled najintenzivnijeg procesa sušenja, značajno veći sadržaj ukupnog pepela ( $P < 0,05$ ) utvrđen nakon 60, 90 i 120 dana proizvodnje u kobasicama izrađenim u trećoj proizvodnoj sezoni (D1, D2, E1, E2), u odnosu na one izrađene u prvoj (A2, B2 i B4), odnosno drugoj (C2, C3). Generalno posmatrano, vrednosti sadržaja ukupnog pepela u *Petrovačkoj kobasici* su na kraju procesa proizvodnje, bez obzira na značajno variranje uslovljeno modelom, odnosno intenzitetom sušenja, bile slične ili čak niže od vrednosti ovog pokazatelja utvrđenih u većini ispitanih fermentisanih kobasica (Bianchi i sar., 1974; Tojagić, 1997; Gimeno i sar., 2000; Lorenzo i sar., 2000; Franco i sar., 2002; Comi i sar., 2005; Salgado i sar., 2006; Elías i Carrascosa, 2010).

Kako se na grafiku 5.13. može videti, promene vrednosti odnosa sadržaja pepela između unutrašnje i spoljašnje frakcije kobasica svih izrađenih grupa su tekle prema obrascu prethodno utvrđenom za odnos sadržaja vlage u ovim radijalnim uzorcima. Tokom većeg dela procesa sušenja sadržaj pepela je bio veći u unutrašnjim frakcijama kobasica, te je i vrednost odnosa sadržaja pepela između koncentričnih frakcija uglavnom bila veća od 1. Izvesna variranja vrednosti posmatranog pokazatelja oko vrednosti 1 su registrovana tokom prvih devet dana sušenja kobasica B4, C2, D1, D2, E1 i E2 grupe, da bi nakon tog perioda vrednost ovog odnosa u svim eksperimentalnim grupama kobasica intenzivno porasla ukazujući na značajno veći sadržaj pepela u unutrašnjim frakcijama kobasica. Takvo kretanje posmatrane vrednosti nameće zaključak da je tokom sušenja došlo do simultane difuzije vode i rastvorenih materija. Najznačajnija od tih materija je svakako NaCl, koji difunduje u suprotnom smeru u odnosu na vodu, te je i njegov sadržaj veći u unutrašnjim frakcijama kobasica (Baldini i sar., 2000; Costa-Corredor i sar., 2010). S obzirom da NaCl čini više od 60% ukupnog pepela u *Petrovačkoj kobasici* (rezultat nije prikazan), njegova migracija ka centru kobasice, odnosno veći sadržaj u tom delu proizvoda može poslužiti kao validno objašnjenje većeg sadržaja ukupnog pepela utvrđenog u unutrašnjim frakcijama kobasica.

Kao što je ranije navedeno, usled postojanja koncentracionog gradijenta između različitih slojeva kobasice, voda je nastavila da difunduje od centra ka perifernim delovima i kada su kobasice upakovane u visokobarijernu polimernu foliju u vakuumu i/ili u modifikovanoj atmosferi. Istovremeno, nastavljena je difuzija rastvorenih mineralnih materija kao rezultat težnje za izjednačavanjem njihovog sadržaja u svim delovima kobasice. Posledično, vrednost odnosa sadržaja ukupnog pepela između koncentričnih frakcija je opala od momenta pakovanja do 120. dana (Grafik 5.14. i 5.15).

Vrednosti koeficijenata i grešaka sedam nelinearnih matematičkih modela (Tabela 4.2), testiranih za opisivanje kinetike sušenja *Petrovačke kobasice*, dobijene regresionom analizom eksperimentalnih podataka, su prikazane u tabeli 5.7. Kako je prethodno navedeno u poglavlju 4.3.1, prihvatljivost pojedinačnih modela za opisivanje procesa sušenja se određuje na osnovu koeficijenta determinacije ( $r^2$ ), čija vrednost treba da je približno 1, te korena srednje kvadratne greške ( $E_{RMS}$ ) i hi-kvadrata ( $\chi^2$ ), čije vrednosti treba da budu što manje.

Iz rezultata prikazanih u tabeli 5.7. se vidi da je proces sušenja kobasica grupe A2 najbolje opisan matematičkim modelom broj 6 (Aproksimacija difuzije), za koji je utvrđena najveća vrednost  $r^2$  (0,9974) i najmanje vrednosti  $E_{RMS}$  i  $\chi^2$  ( $1,23 \times 10^{-2}$  i  $2,28 \times 10^{-4}$ , redom). Proces sušenja kobasica grupe B2 najbolje opisuje matematički model broj 2 (Page), za koji je utvrđena najveća vrednost  $r^2$  (0,9909), odnosno najmanje vrednosti  $E_{RMS}$  i  $\chi^2$  ( $2,28 \times 10^{-2}$  i  $6,68 \times 10^{-4}$ , redom). Eksperimentalni podaci dobijeni tokom sušenja kobasica iz grupe B4 najbolje se predviđaju matematičkim modelom broj 6 (Aproksimacija difuzije), za koji je utvrđena najveća vrednost  $r^2$  (0,9896), odnosno najmanje vrednosti  $E_{RMS}$  i  $\chi^2$  ( $2,77 \times 10^{-2}$  i  $1,15 \times 10^{-3}$ , redom). Nadalje se na osnovu vrednosti prikazanih u istoj tabeli može videti da se proces sušenja kobasica C2 grupe najbolje opisuje modelom broj 4 (Logaritamski), za koji utvrđene vrednosti  $r^2$ ,  $E_{RMS}$  i  $\chi^2$  iznose 0,9936;  $2,05 \times 10^{-2}$  i  $6,75 \times 10^{-4}$ , redom. Proces sušenja kobasica grupe C3 ponovo najbolje opisuje matematički model broj 6 (Aproksimacija difuzije), za koji je utvrđena najveća vrednost  $r^2$  (0,9986) i najmanje vrednosti  $E_{RMS}$  i  $\chi^2$  ( $1,01 \times 10^{-2}$  i  $1,53 \times 10^{-4}$ , redom). Eksperimentalni podaci dobijeni tokom sušenja kobasica iz grupe D1 najbolje se predviđaju matematičkim modelom broj 4 (Logaritamski), za koji utvrđene vrednosti  $r^2$ ,  $E_{RMS}$  i  $\chi^2$  redom iznose 0,9932;  $2,49 \times 10^{-2}$  i  $9,33 \times 10^{-4}$ . Takođe, iz rezultata prikazanih u istoj tabeli može se videti da je proces sušenja kobasica preostale tri grupe izrađene u trećoj sezoni (D2, E1 i E2) najbolje opisan matematičkim modelom broj 6 (Aproksimacija difuzije). Utvrđene vrednosti  $r^2$  ovog matematičkog modela za navedene grupe redom iznose 0,9959; 0,9954 i 0,9980, a vrednosti za  $E_{RMS}$  i  $\chi^2$  iznose  $1,86 \times 10^{-2}$ ,  $2,04 \times 10^{-2}$  i  $1,32 \times 10^{-2}$ , odnosno  $5,19 \times 10^{-4}$ ,  $6,24 \times 10^{-4}$  i  $2,62 \times 10^{-4}$ , redom.

Dakle, u najvećem broju slučajeva (A2, B4, C3, D2, E1, E2) matematički model Aproksimacija difuzije (6) na najbolji način predviđa eksperimentalne podatke dobijene analizom sadržaja vode u uzorcima tokom sušenja *Petrovačke kobasice* kako u tradicionalnim, tako i u kontrolisanim uslovima. Pored navedenog modela, Logaritamski (4) i Page-ov (2) matematički model na zadovoljavajući način opisuju proces sušenja ove tradicionalne fermentisane kobasice. Dakle, na osnovu ova tri matematička modela sa

velikom sigurnošću se može predvideti sadržaj vlage u kobasicama u bilo kom momentu procesa sušenja, te ih proizvođači mogu iskoristiti za određivanje dana kada će kobasice imati optimalan sadržaj vlage, odnosno kada treba da prekinu proces sušenja. Tako je na primer proces sušenja kobasica B4 grupe, u prvoj proizvodnoj sezoni, prekinut već 45. dana jer je vizuelno delovalo da će se kobasice presušiti. Međutim, ispostavilo se da je to urađeno prerano, jer je naknadnom analizom utvrđeno da ove kobasice sadrže više vlage nego što je očekivano (37,5%), te da ne ispunjavaju zahteve Pravilnika u tom pogledu za suve fermentisane kobasice (<35%) (Sl. glasnik RS, br. 31/2012). Po završetku prve sezone ogleda, analizom dobijenih rezultata je uočeno da kobasice B2 grupe, sa najvišim ukupnim senzornim kvalitetom (%) (Grafik 5.18), sadrže 32 – 33% vlage, te je odlučeno da u narednim istraživanjima proces sušenja *Petrovačke kobasice* treba zaustaviti pri toj vrednosti ovog pokazatelja. Na osnovu eksperimentalnih podataka dobijenih tokom sušenja kobasica B4 grupe i matematičkih modela koji dobro aproksimiraju te podatke (6, 2 i 4) izračunato je da bi odgovarajući sadržaj vlage u ovim kobasicama (32 – 33%) bio postignut za ≈60 dana sušenja. Otuda je u naredne dve sezone ogleda proces sušenja *Petrovačke kobasice* u kontrolisanim uslovima trajao 60 dana. Međutim, analizom ukupnog senzornog kvaliteta kobasica grupe B2 i B4, kao i rezultata koji opisuju kinetiku sušenja, ali i zrenja tih kobasica, pored konstatacije da u daljem modelovanju sušenje treba završiti za ≈60 dana, uočeno je da i sam tok sušenja mora na drugi način biti usklađen sa kinetikom zrenja, kako bi se obezbedio bolji ukupni kvalitet kobasica, o čemu će još biti reči.

Tokom čitavog perioda proizvodnje kobasica, od momenta izrade sirovog nadeva do pakovanja i skladištenja gotovih proizvoda, pa i kasnije do momenta konzumiranja, u kobasicama se odvija proces zrenja. Ovaj proces obuhvata kompleksne promene osnovnih gradivnih elemenata mesa, izazvane aktivnošću enzima mišićnog i masnog tkiva, kao i enzima mikrobnog porekla. Istovremeno sa tim procesom, vrednost pH nadeva opada usled fermentacije, te dolazi do smanjenja SVV proteina, a posledično i lakšeg izdvajanja vode iz kobasice sušenjem. Takođe, započinje i solubilizacija proteina delovanjem NaCl (Schneider i Rede, 1999; Poulane i Halonen, 2010), koji je specifičnom operacijom mešanja doveden u kontakt sa svim partikulama mišićnog tkiva, odnosno proteinima mesa. S obzirom da su proteini (sarkoplazmatski i miofibrilarni) najznačajnija komponenta mesa, koja čini i najveći deo suve materije, pod procesom zrenja kobasica se u prvom redu podrazumevaju promene koje nastaju njihovom razgradnjom (proteoliza). Posledica tog procesa je slabljenje miofibrilarne mreže i nastanak raličitih neproteinskih azotnih jedinjenja, usled čega dolazi do

specifične interakcije sa prethodno opisanim procesima, te formiranja karakteristične teksture, ukusa i mirisa ovih proizvoda (Hughes i sar., 2002; Toldrá, 2002; 2006a; 2007; Toldrá i Reig, 2006; Dalmış i Soyer, 2008; Roseiro i sar., 2008; Spaziani i sar., 2009). Rezultati dobijeni određivanjem nekih pokazatelja intenziteta procesa proteolize, tokom proizvodnje eksperimentalnih grupa *Petrovačke kobasice* izrađenih u okviru ove doktorske disertacije, prikazani su u tabelama od 5.8. do 5.29.

Kako je prethodno već navedeno, tokom procesa sušenja, usled izdvajanja vode došlo je do porasta relativnog sadržaja suve materije u kobasicama svih izrađenih grupa, pa tako i do povećanja sadržaja proteina (Tabela 5.8). Ovo je posebno bilo izraženo u kobasicama proizvedenim u trećoj proizvodnoj sezoni kao rezultat intenzivnog procesa sušenja, te je sadržaj proteina u kobasicama D1, D2, E1 i E2 bio značajno veći ( $P < 0,05$ ) u odnosu na one izrađene u prvoj i drugoj sezoni izrade. Prikazani rezultati ukazuju na činjenicu da su sve eksperimentalne grupe proizvoda na kraju procesa sušenja imale odgovarajuće vrednosti sadržaja proteina (26,6 – 32,3%), odnosno vrednosti ovog pokazatelja su u svim kobasicama bile veće od 25%, kako se zahteva u Tehnološkom elaboratu (Petrović i sar., 2007). Samim tim je ispunjen i uslov Pravilnika (Sl. glasnik RS, br. 31/2012) u pogledu sadržaja proteina u gotovom proizvodu, za fermentisane suve kobasice u tipu kulena (>22%). U periodu od kraja procesa sušenja do 120. dana proizvodnje vrednosti sadržaja proteina u neupakovanim kobasicama svih eksperimentalnih grupa su dodatno narasle i kretale su se u intervalu od 28,8 do 37,3%. Vrednosti sadržaja proteina u *Petrovačkim kobasicama* svih eksperimentalnih grupa, kako na kraju procesa sušenja tako i na kraju ukupnog perioda proizvodnje, su bile više od utvrđenih vrednosti ovog parametra u španskim tradicionalnim kobasicama *Androlla*, *Botillo*, *Chorizo de cebolla*, *Chorizo de Pamplona* i *Salchichón* (Berriain i sar., 2000; Gimeno i sar., 2000; Lorenzo i sar., 2000; Franco i sar., 2002; Salgado i sar., 2006; Bañón i sar., 2010), u italijanskim kobasicama iz regiona Friuli Venezia Giulia i Lombardia (*Varzi*) (Comi i sar., 2005; Di Cagno i sar., 2008), kao i u portugalskoj kobasici *Paio do Alentejo* (Elías i Carrascosa, 2010). Istovremeno, vrlo slične vrednosti sadržaja proteina na kraju procesa proizvodnje su utvrđene u sicilijanskoj salami i salamama *Brianza* i *Piacentino* (Moretti i sar., 2004; Di Cagno i sar., 2008), portugalskim kobasicama *Salpicaõ de Vinhais* i *Chouriça de Vinhais* (Ferreira i sar., 2007), dok su u većini francuskih tradicionalnih kobasica iz regiona Massif Central utvrđene čak i nešto više vrednosti ovog pokazatelja kvaliteta (Rason i sar., 2007). Ukoliko se sadržaj proteina utvrđen u *Petrovačkim kobasicama* uporedi sa vrednostima ovog parametra u drugim srpskim tradicionalnim fermentisanim kobasicama u tipu kulena

može se zapaziti velika podudarnost, koja ukazuje na sličan sirovinski sastav i stepen sušenja ovih proizvoda (Vuković i sar., 2004; 2011b; 2012).

U tabelama 5.9 – 5.11. su prikazane prosečne vrednosti sadržaja azotnih frakcija (NPN,  $\text{NH}_2\text{-N}$ ) nastalih usled hidrolize proteina mesa tokom procesa dimljenja, sušenja i zrenja *Petrovačke kobasice*. Dakle, usled razgradnje sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina nastali polipeptidi, peptidi, aminokiseline, aldehidi, amini i druge neproteinske azotne materije su uticale na to da u kobasicama dođe do porasta sadržaja neproteinskog azota (NPN), a samim tim i povećanja indeksa proteolize (IP), odnosno udela neproteinskog azota u ukupnom azotu (NPN%TN). Istu pojavu tokom ispitivanja procesa proteolize u različitim fermentisanim kobasicama su prethodno uočili mnogi autori (De Masi i sar., 1990; García De Fernando i Fox, 1991; Beriain i sar., 2000; Hughes i sar., 2002; Dalmış i Soyer, 2008; Roseiro i sar., 2010; Casquete i sar., 2011).

Kako se u tabeli 5.9. može videti, sadržaj NPN-a je od momenta izrade sirovog nadeva do kraja procesa sušenja intenzivno porastao ( $P < 0,05$ ) u kobasicama svih eksperimentalnih grupa. Međutim, najveći porast je utvrđen u kobasicama izrađenim u trećoj proizvodnoj sezoni gde je sadržaj ove azotne frakcije na kraju procesa sušenja bio za  $\approx 80\%$  veći u odnosu na početnu vrednost utvrđenu u nadevu. Istodobno, porast sadržaja NPN-a u kobasicama izrađenim u prvoj proizvodnoj sezoni je bio značajno manji, što je posebno bilo izraženo u grupi B4 (45,7%), dok je porast sadržaja ove azotne frakcije na kraju procesa sušenja kobasica grupe C2 i C3 iznosio  $\approx 65\%$ . Nakon 120. dana sadržaj NPN-a je dodatno porastao, što je posebno bilo izraženo u upakovanim kobasicama, ali je odnos ovih vrednosti između sezona izrade ostao isti. Naime, najmanji porast sadržaja NPN-a u kobasicama izrađenim u prvoj proizvodnoj sezoni (A2, B2, B4) može se objasniti malim padom vrednosti pH tokom fermentacije (Tabela 5.4). Relativno visoka vrednost pH u tim kobasicama uslovlila je nisku aktivnost katepsina D, a posledično i mali intenzitet razgradnje miofibrilarnih proteina, a posebno aktina (Molly i sar., 1997; Toldrá i Flores, 2000; Toldrá, 2002). Otuda je u druge dve sezone izrade, kada je u kobasicama došlo do značajnijeg pada vrednosti pH, registrovan i značajno veći porast ove azotne frakcije. Nešto niža vrednost sadržaja NPN-a na kraju procesa sušenja, odnosno na kraju procesa proizvodnje (120. dan) u kobasicama C2 i C3 grupe, u odnosu na one proizvedene u trećoj sezoni, može se objasniti nižom inicijalnom vrednošću sadržaja NPN-a, uslovljenom sirovinskim sastavom nadeva. Naime, nadev kobasica C2 i C3 grupe je komparativno posmatrano, imao veći sadržaj masti (22-23%), odnosno manji sadržaj proteina, pa tako i manji sadržaj neproteinskog azota. Međutim, ovo

nikako ne znači da je u kobasicama C2 i C3 grupe proces proteolize bio manje intenzivan u odnosu na kobasice grupa D1, D2, E1 i E2, što potvrđuju i podaci vezani za indeks proteolize (IP) prikazani u tabeli 5.10. Iz rezultata prikazanih u ovoj tabeli može se videti da je udeo NPN-a u ukupnom azotu kobasica C2 i C3 grupe bio čak i veći od onog registrovanog u kobasicama D1, D2, E1 i E2 grupe nakon istih perioda proizvodnje.

Na osnovu rezultata istraživanja velikog broja autora (Hughes i sar., 2002; Candogan i sar., 2009; Dalmış i Soyer, 2008; Kaban i Kaya, 2009; Casquete i sar., 2011) utvrđeno je da je povećanje sadržaja neproteinskog azota tokom zrenja fermentisanih kobasica posebno izraženo u prisustvu starter kultura, što ukazuje na značaj mikrobnih peptidaza za proces proteolize. Naime, prema navedenim autorima, peptidi male molekulske mase i slobodne aminokiseline, jedinjenja koja najviše doprinose porastu NPN-a, nastaju u poslednjoj fazi procesa proteolize kombinovanom aktivnošću bakterijskih i mišićnih enzima. Upoređujući ova saznanja sa rezultatima dobijenim tokom ispitivanja hidrolize proteina u kobasicama izrađenim u trećoj proizvodnoj sezoni sa i bez dodatka starter kulture (D1, D2, E1 i E2) primećuje se određeno odstupanje (Tabela 5.9). Naime, analizom rezultata sadržaja neproteinskog azota uočava se da je u sirovom nadevu njegova vrednost iznosila 0,63 g/100g sm, kao i da se taj sadržaj postepeno povećavao do kraja procesa proizvodnje sve četiri grupe kobasica. Kako se dalje u tabeli 5.9. može videti, kod D grupe kobasica do 60. dana vrednost NPN je bila viša u kobasicama izrađenim sa starter kulturom (D2), sa izuzetkom 6. i 9. dana proizvodnje, dok je na kraju procesa sušenja (90. dan) i na kraju ukupnog procesa proizvodnje (120. dan) sadržaj NPN-a bio viši u kobasicama bez starter kulture (D1). Kod E grupe kobasica odstupanje od očekivanih rezultata je bilo prisutno u najvećem delu procesa proizvodnje, izuzev u prvih 9 dana kada je vrednost NPN bila viša u kobasicama sa starter kulturom. Dakle, uticaj dodatka starter kulture na intenzitet procesa proteolize, izražen porastom sadržaja NPN-a, nije bio uočljiv osim u prvih nekoliko dana, kada je pod uticajem dodatih BMK došlo do bržeg pada vrednosti pH, a posledično verovatno i bržeg aktiviranja katepsina D. Sa druge strane, velika acidifikacija u kobasicama izrađenim uz dodatak starter kulture je najverovatnije uticala na inhibiciju rasta i razvoja dodatih bakterija iz roda *Staphylococcus* (Lizaso i sar., 1999; Casaburi i sar., 2007), koje ispoljavaju proteolitičku aktivnost (Casaburi i sar., 2005; 2007; Bonomo i sar., 2009; Aro Aro i sar., 2010), te u kobasicama D2 i E2 grupe nije došlo do intenzivnije hidrolize proteina. Bez obzira na navedene razlike u porastu sadržaja NPN-a tokom proizvodnje različitih eksperimentalnih grupa, može se izvesti generalan zaključak da je sadržaj ove azotne frakcije u *Petrovačkoj*



*kobasici* na kraju procesa proizvodnje veći od većine referisanih vrednosti ovog parametra za mnoge evropske tradicionalne fermentisane kobasice (Beriain i sar., 2000; Lorenzo i sar., 2000; Franco i sar., 2002; Benito i sar., 2005; Salgado i sar., 2006; Roseiro i sar., 2008; 2010; Casquet i sar., 2011). Međutim, treba imati na umu da proces proizvodnje *Petrovačke kobasice* duže traje (120 dana). Sa druge strane, nekoliko puta veći sadržaj NPN-a je utvrđen u tipičnoj sicilijanskoj salami nakon 90 dana sušenja i zrenja u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima (Moretti i sar., 2004).

Kao što je već napomenuto, u tabeli 5.10. su date vrednosti indeksa proteolize, odnosno udela neproteinskog azota u ukupnom azotu. Na osnovu dosadašnjih ispitivanja zaključeno je da ovaj pokazatelj bolje i objektivnije ukazuje na intenzitet, odnosno stepen proteolize od samog apsolutnog sadržaja NPN-a. Naime, vrednost IP pokazuje koji deo inicijalno prisutnog ukupnog azota je tokom procesa proteolize postao neproteinski, a samim tim i koliko je proteina razgrađeno. Analizom rezultata prikazanih u pomenutoj tabeli, može se uočiti konstantan rast ovog pokazatelja u svih devet grupa, od inicijalne vrednosti  $\approx 9,0\%$  do vrednosti koja je na kraju procesa sušenja varirala u intervalu od  $13,9\%$  (B4) do  $16,1\%$  (D1). Vrednost IP na kraju perioda sušenja je dakle varirala u zavisnosti od svih prethodno navedenih promenljivih faktora, a ponajviše od termo-higrometrijskih uslova koji su u najvećoj meri odredili dinamiku promena vrednosti pH i brzinu sušenja, a samim tim i trajanje perioda sušenja i zrenja (proteolize). U narednom periodu, do 120. dana proizvodnje, proces proteolize je nastavljen, te je došlo do porasta vrednosti IP, koja je u tom momentu varirala od  $15,0\%$ , koliko je utvrđeno u kobasicama izrađenim u prvoj sezoni, do  $17,7\%$ , koliko IP je utvrđen u kobasicama C2 grupe. Istovremeno, utvrđene vrednosti indeksa proteolize u kobasicama koje su nakon perioda sušenja upakovane u vakuumu ili modifikovanoj atmosferi su bile značajno veće, varirajući od  $15,4\%$  (B4M) do  $18,6\%$  (D1V). Dakle, proces proteolize je bio intenzivniji u kobasicama sa većim sadržajem vode, odnosno višom vrednosti  $a_w$ . Ovaj rezultat potvrđuje navode nekih autora (Toldrá i sar., 1992; Toldrá, 2002) da aktivnost proteolitičkih enzima značajno opada tokom sušenja, odnosno pri smanjenju  $a_w$  vrednosti. Sličan rast vrednosti IP u fermentisanim kobasicama su registrovali García de Fernando i Fox (1991) i Beriain i sar. (2000), ali tokom kraćeg perioda zrenja. Sa druge strane, neki autori (DeMasi i sar., 1990; Hughes i sar., 2002; Dalmış i Soyer, 2008; Bañón i sar., 2010) su tokom proizvodnje fermentisanih kobasica uočili mnogo manji porast sadržaja NPN-a, za  $\approx 1,5-3,0\%$  ukupnog azota.

Kada je u pitanju  $\text{NH}_2\text{-N}$ , inicijalni sadržaj ove azotne frakcije je varirao od 0,25 g/100g sm, kolika vrednost je utvrđena u sirovom nadevu za kobasice D1, D2, E1 i E2 grupe, do 0,33 g/100g sm, koliko je utvrđeno u nadevu izrađenom u domaćinstvu B u prvoj sezoni izrade (Tabela 5.11). Ovaj početni sadržaj  $\alpha$ -aminokiselinskog azota je u kobasicama izrađenim u prvoj proizvodnoj sezoni (A2, B2, B4) ostao praktično na istom nivou do 30. dana proizvodnje, a zatim je značajno porastao do 120. dana, što je posebno bilo izraženo u kobasicama B4 grupe koje su nakon perioda sušenja upakovane u vakuumu. Dobijeni rezultat je najverovatnije posledica višefaznog razvoja procesa proteolize koji započinje inicijalnom razgradnjom miofibrilarnih proteina, od strane kalpaina i katepsina, te nastankom manjih proteinskih fragmenata i polipeptida. Ove novoformirane komponente predstavljaju značajan supstrat za delovanje peptidaza, čijom aktivnošću u kasnijim fazama hidrolize proteina nastaju manji peptidi i slobodne aminokiseline. Kao što je već prethodno napomenuto, mali pad vrednosti pH u ovim kobasicama (Tabela 5.4) je uslovio nisku aktivnost katepsina D, te mali intenzitet razgradnje miofibrilarnih proteina (Molly i sar., 1997; Toldrá i Flores, 2000; Toldrá, 2002). Otuda je inicijalna faza proteolize u kobasicama A2, B2 i B4 grupe bila produžena, a značajniji porast sadržaja  $\text{NH}_2\text{-N}$  je registrovan tek pošto je pH dostigla svoj minimum, odnosno nakon 45 (B4) i 60 (A2 i B2) dana. Slična razmatranja se mogu primeniti i kada se pogleda promena sadržaja ove azotne frakcije u kobasicama C2 i C3 grupe. Naime, tokom prvih 6 do 9 dana proizvodnje posmatrani sadržaj  $\alpha$ -aminokiselinskog azota je praktično ostao na početnom nivou, da bi značajniji porast bio registrovan nakon 15. dana, kada je došlo i do značajnijeg pada vrednosti pH u obe grupe kobasica. U narednom periodu proizvodnje vrednost ovog pokazatelja proteolize je konstantno rasla, da bi 120. dana u obe grupe kobasica bila  $\approx 3$  puta veća u odnosu na početnu. Ovaj porast je posebno bio izražen u kobasicama koje su nakon 60. dana upakovane u vakuumu ili u modifikovanoj atmosferi, ukazujući jos jednom koliko značajno vrednost  $a_w$  utiče na aktivnost proteolitičkih enzima (Toldrá i sar., 1992; Toldrá, 2002). Kada su u pitanju kobasice izrađene u trećoj proizvodnoj sezoni, zapaža se da je vrednost sadržaja  $\text{NH}_2\text{-N}$  u kobasicama sušenim u tradicionalnim uslovima (D) imala tendenciju blagog rasta do 30. dana, kada je dostigla vrednost 0,36 g/100g sm u obe grupe (D1 i D2). U kobasicama sušenim u kontrolisanim uslovima slična vrednost sadržaja ove azotne frakcije je dostignuta već posle 6 dana (E1 0,36 g/100g sm; E2 0,34 g/100g sm), bez obzira na prisustvo starter kulture u drugoj grupi. Ova pojava je najverovatnije izazvana višim temperaturama u industrijskoj komori tokom procesa dimljenja (Grafik 5.7), što je pogodovalo rastu i razvoju bakterijske kulture, kako autohtone, tako i

dobate, te naglom padu vrednosti pH izazvanom intenzivnom fermentacijom dodatih ugljenih hidrata (crvena začinska paprika, kristal šećer). Posledično, verovatno je došlo do aktivacije katepsina, a posebno katepsina D, koji u početnoj fazi razlaže miofibrilarne proteine do proteinskih fragmenata i polipeptida. Takođe, moguće je da je povišena inicijalna temperatura izazvala i veću aktivnost mikrobnih proteolitičkih enzima (Casquete i sar., 2011), te je u kobasicama izrađenim uz dodatak starter kulture došlo do brže akumulacije  $\text{NH}_2\text{-N}$ . Razlika u brzini i intenzitetu inicijalne faze proteolize između kobasica D i E grupa je bila evidentna do 30. dana. U tom periodu sadržaj  $\text{NH}_2\text{-N}$  frakcije u E grupama kobasica je lagano rastao i sve vreme bio značajno veći od sadržaja iste frakcije u kobasicama D grupa. Nakon 30. dana proizvodnje temperatura u tradicionalnim uslovima je porasla nekoliko stepeni (Grafik 5.6), vrednost pH je opala, te je i u kobasicama D1 i D2 grupe došlo do značajnije proteolize što je potvrđeno veoma sličnim sadržajem  $\text{NH}_2\text{-N}$  frakcije u svim grupama kobasica 60. dana (D1 0,47 g/100g sm; D2 0,46 g/100g sm; E1 0,46 g/100g sm; E2 0,45 g/100g sm). Između 60. i 120. dana sadržaj ove azotne frakcije je dodatno porastao do vrednosti koja je u neupakovanim kobasicama varirala u intervalu od 0,49 g/100g sm (E2) do 0,54 g/100g sm (E1), dok su u kobasicama upakovanim u vakuumu registrovane nešto veće vrednosti ovog pokazatelja proteolize (od 0,53 g/100g sm (D1) do 0,62 g/100g sm (E1)). Kada se utvrđeni sadržaj  $\alpha$ -aminokiselinskog azota uporedi sa vrednostima ovog pokazatelja registrovanim u različitim evropskim tradicionalnim fermentisanim kobasicama (Lorenzo i sar., 2000; Franco i sar., 2002; Benito i sar., 2005; Salgado i sar., 2006; Roseiro i sar., 2008; 2010; Casquet i sar., 2011) može se zaključiti da u *Petrovačkoj kobasici* tokom 120 dana dugog procesa proizvodnje nastaje znatno veća količina ove azotne frakcije.

Uobičajena metoda za ispitivanje promena sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina, koje se dešavaju tokom zrenja fermentisanih kobasica, je elektroforeza na poliakrilamidnom gelu u prisustvu natrijum-dodecil-sulfata (SDS-PAGE). Međutim, ova analitička tehnika je veoma naporna i dugotrajna jer se sastoji od velikog broja neophodnih koraka (faza), kao što su bojenje, odbojavanje, skeniranje i analiza dobijenih gelova. Nasuprot, mikrofluidna ili Lab-on-a-Chip metoda je minijaturizovana i automatizovana tehnika, zasnovana na principima klasične elektroforeze, koja se koristi za brzo i pouzdano ispitivanje proteina na čipu. Na osnovu rezultata mnogobrojnih autora Lab-on-a-Chip metoda je prihvaćena kao dobra alternativa klasičnoj SDS PAG elektroforezi (Soriano Pérez i García, 2003; Goetz i sar., 2004; Hsieh i Chen, 2007; Torbica i sar., 2010). Otuda je ova tehnika iskorišćena za praćenje razgradnje (hidrolize) najznačajnijih proteina tokom procesa zrenja *Petrovačke kobasice*.

Naime, nakon svakog uzorkovanja kobasica svih izrađenih grupa, uz pomoć Lab-on-a-Chip metode su razdvojene i kvantifikovane različite proteinske frakcije ekstrahovane pri odgovarajućim uslovima (pH i jonska jačina) kao sarkoplazmatski i miofibrilarni proteini. Analizom rezultata prikazanih u odgovarajućim tabelama od 5.12. do 5.29. (Prikaz rezultata), uočava se da je tokom proizvodnje došlo do značajne degradacije proteina, odnosno izmene sastava proteinskih frakcija u ekstraktima sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina svih eksperimentalnih grupa *Petrovačke kobasice*.

Ukoliko se komparativno pogleda sastav proteinskih frakcija sarkoplazmatskih proteina ekstrahovanih iz kobasica tri eksperimentalne grupe izrađene u prvoj proizvodnoj sezoni (Tabele 5.12, 5.14. i 5.16) može se uočiti da je već iz sirovog nadeva, izrađenog od toplog (A), odnosno hladnog mesa (B), ekstrahovan veliki broj polipeptida molekulskih masa u rasponu od  $\approx 14$  kDa do  $\approx 148$  kDa. Tokom proizvodnje, u sve tri grupe je došlo do povećanja koncentracije i nastanka novih proteinskih frakcija uglavnom manjih molekulskih masa ( $< 30$  kDa), što je u saglasnosti sa referisanim rezultatima više autora (Hughes i sar., 2002; Di Luccia i sar., 2005; Dalmış i Soyer, 2008; Spaziani i sar., 2009; Martín-Sánchez i sar., 2011). Takođe, zajednička karakteristika procesa proteolize u sve tri grupe kobasica je drastično smanjenje koncentracije, odnosno razgradnja dve proteinske frakcije od  $\approx 42$  i  $44$  kDa, koje su bile najzastupljenije u ekstraktu oba nadeva. Kao rezultat te razgradnje, nakon 2, 15 i 6 dana, redom, nastala je proteinska frakcija molekulske mase  $\approx 40$  kDa, čiji udeo (%) je do kraja procesa proizvodnje višestruko povećan, te je 120. dana ovaj polipeptid bio najzastupljeniji u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica sve tri grupe kobasica, kako neupakovanih, tako i onih upakovanih u vakuumu. Ovaj rezultat je u saglasnosti sa publikovanim rezultatima Martín-Sánchez i sar. (2011), koji su takođe uočili veliki porast sadržaja frakcije od  $\approx 40$  kDa tokom zrenja španske tradicionalne kobasice *Salchichón*. Generalno, može se uočiti da je tokom zrenja ovih kobasica došlo do spore hidrolize sarkoplazmatskih proteina, te je većina polipeptida koji su delimično ili potpuno degradirani ( $\approx 32, 42, 44, 53, 93$  kDa) značajan deo svoje inicijalne koncentracije izgubio tek nakon 30 do 60 dana zrenja. Ovo nije bio slučaj samo sa frakcijom od  $\approx 35$  kDa koja je već nakon 2 (A2), odnosno 6 (B2, B4) dana izgubila više od 70% svoje početne koncentracije. Drugi autori (Di Luccia i sar., 2005; Casaburi i sar., 2005; 2007; Dalmış i Soyer, 2008; Spaziani i sar., 2009; Aro Aro i sar., 2010; Martín-Sánchez i sar., 2011) koji su ispitivali proces proteolize u fermentisanim kobasicama su takođe utvrdili nizak intenzitet razgradnje sarkoplazmatskih proteina, u proizvodima od mesa izrađenim bez dodatka starter kulture, kao rezultat slabe

aktivnosti endogenih proteinaza. U slučaju A2 i B2 kobasica, na aktivnost ovih enzima je najverovatnije negativno uticala visoka vrednost pH (Tabela 5.4) i niska ambijentalna temperatura (Grafik 5.1. i 5.2), kako je to prethodno utvrđeno od strane više autora (Toldrá i sar., 1992; Casaburi et al., 2007; Roseiro et al., 2008), dok je u slučaju B4 grupe smanjena aktivnost enzima bila uzrokovana i veoma niskom aktivnošću vode nakon 45. dana proizvodnje (Tabela 5.3) u kontrolisanim uslovima (Toldrá i sar., 1992; Toldrá, 2002). Otuda je u kobasicama B4 grupe, koje su po završetku procesa sušenja bile upakovane u vakuumu, došlo do nešto intenzivnije razgradnje polipeptida od  $\approx 44$  kDa u odnosu na neupakovane, a posledično je formirana i veća količina frakcije molekulske mase  $\approx 40$  kDa. Dodatno, objašnjenje relativno slabe hidrolize sarkoplazmatskih proteina bi se moglo potražiti i u činjenici da su najzastupljenije BMK izolovane iz ovih kobasica (*Lactobacillus sakei*, *Leuconostoc mesenteroides* i *Pediococcus pentosaceus*) iskazale slabu proteolitičku aktivnost tokom zrenja u opisanim uslovima proizvodnje (Danilović i sar., 2011), što potvrđuje tezu o manjem značaju bakterijskih proteinaza za proces proteolize u fermentisanim kobasicama, po mišljenju nekih autora (Toldrá, 2002).

Kvalitativni i kvantitativni sastavi proteinskih frakcija miofibrilarnih proteina ekstrahovanih iz kobasica A2, B2 i B4 grupe, tokom proizvodnje u prvoj sezoni izrade, prikazani su u tabelama 5.13, 5.15. i 5.17. u poglavlju Prikaz rezultata. Kako se iz prikazanih rezultata može videti, najznačajniji miofibrilarni proteini (miozin i aktin) su tokom procesa zrenja iskazali različitu stabilnost u odnosu na aktivnost proteolitičkih enzima. Tako je teški lanac miozina (HMM,  $\approx 220$  kDa) u velikoj meri degradiran u sve tri grupe kobasica, te je nakon 30 dana proizvodnje izgubio više od 50% svoje inicijalne koncentracije, da bi na kraju procesa proizvodnje (120. dan) njegov udeo u proteinskim ekstraktima iznosio svega nekoliko procenata. Prikazani rezultat je u saglasnosti sa nalazima mnogih autora koji su takođe utvrdili značajnu degradaciju HMM-a tokom zrenja fermentisanih kobasica izrađenih bez starter kulture (Díaz i sar., 1997; Toldrá, 1998; Casaburi i sar., 2007; Roseiro i sar., 2008; Spaziani i sar., 2009; Casquete i sar., 2011). Nasuprot, sadržaj proteina molekulske mase  $\approx 45$  kDa (aktin) je praktično ostao nepromenjen, potvrđujući navode mnogih autora o velikoj stabilnosti ovog globularnog proteina tokom zrenja prirodno fermentisanih kobasica i šunke (Díaz i sar., 1997; Toldrá, 1998; Casaburi i sar., 2007; Roseiro i sar., 2008). Istovremeno sa razgradnjom teškog lanca miozina, koncentracija proteinskih frakcija od  $\approx 145$  i 160 kDa je intenzivno porasla, što je najverovatnije posledica nastanka i komigracije polipeptida slične molekulske mase. Prethodno su različiti autori (Candogan i sar., 2009; Spaziani i sar., 2009;

Martín-Sánchez i sar., 2011) utvrdili da usled razgradnje teškog lanca miozina tokom zrenja fermentisanih kobasica nastaje polipeptid molekulske mase u intervalu od 120 do 150 kDa. Tokom proizvodnje kobasica A2, B2 i B4 grupe došlo je i do porasta udela više prisutnih i nastanka novih proteinskih frakcija u rasponu molekulskih masa od  $\approx 14$  do 40 kDa, što je od posebnog značaja s obzirom da se smatra da ova jedinjenja niske molekulske mase doprinose razvoju karakteristične arome (Toldrá, 1998; 2002). Takođe, udeo polipeptida molekulske mase  $\approx 66$  i 100 kDa je povećan tokom zrenja kobasica sve tri grupe. Nastanak i akumulacija više proteinskih fragmenata u intervalu molekulskih masa 14-45 kDa i 50-100 kDa je takođe uočena od strane većeg broja autora (Hughes i sar., 2002; Toldrá, 2002; Soriano Pérez i García Ruiz, 2003; Dalmış i Soyer, 2008; Candogan i sar., 2009; Spaziani i sar., 2009; Martín-Sánchez i sar., 2011) koji su ispitivali proces proteolize tokom zrenja fermentisanih kobasica i šunke. Dalje se može uočiti da je u kobasicama sve tri grupe došlo do razgradnje polipeptida od  $\approx 27$  kDa, kao i proteinske frakcije molekulske mase  $\approx 94$  kDa (najverovatnije  $\alpha$ -aktinin), što je u saglasnosti sa rezultatima Casaburi i sar. (2007) i Dalmış i Soyer-a (2008).

Sastav i udeli pojedinačnih proteinskih frakcija u ekstraktima sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina kobasica C2 i C3 grupe, dati su tabelama od 5.18. do 5.21, u poglavlju Prikaz rezultata. Kako se iz predloženih rezultata može videti, ekstrakti sarkoplazmatskih proteina dobijeni iz sirovog nadeva obe grupe (C2 – ručno mešanje, C3 – mašinsko mešanje) su bili sastavljeni od po 18 različitih proteinskih frakcija molekulskih masa u intervalu od  $\approx 14$  kDa do  $\approx 148$  kDa. Kako je proces proizvodnje, odnosno zrenja, odmicao u kobasicama obe posmatrane grupe je došlo do značajnih promena na sarkoplazmatskim proteinima, što se može utvrditi na osnovu promene kvalitativnog i kvantitativnog sastava ekstrakata tokom vremena. Iako na prvi pogled rezultati prikazani u tabelama 5.18. i 5.19. ne otkrivaju neke značajnije razlike u brzini i intenzitetu hidrolize sarkoplazmatskih proteina ove dve grupe kobasica, detaljnijom analizom se ipak može uočiti da je u kobasicama C2 grupe do kraja procesa proizvodnje akumulirana značajno veća količina polipeptida molekulske mase  $\approx 40$  kDa, bez obzira da li su u pitanju neupakovani ili upakovani proizvodi. Smatra se da je sadržaj ove proteinske frakcije povećan usled hidrolize polipeptida nešto veće molekulske mase ( $\approx 43$  kDa), koji je u obe posmatrane grupe značajno degradiran u odnosu na početnu koncentraciju ( $>80\%$ ). Međutim, dok je u grupi C2 praktično ukupan inicijalni sadržaj ovog polipeptida od  $\approx 43$  kDa degradiran do frakcije bliske molekulske mase ( $\approx 40$  kDa), u kobasicama grupe C3 je dobar deo razgrađen do frakcija manjih molekulskih masa. Otuda je u proizvodima grupe C3 došlo do veće akumulacije frakcija male molekulske mase ( $<30$  kDa).

Ovaj rast sadržaja polipeptida malih molekulskih masa tokom zrenja fermentisanih kobasica prethodno su referisali brojni autori (Hughes i sar., 2002; Di Luccia i sar., 2005; Dalmiř i Soyer, 2008; Spaziani i sar., 2009; Martín-Sánchez i sar., 2011). Takođe, u kobasicama C3 grupe je došlo do intenzivnije hidrolize polipeptida od  $\approx 99$  kDa, te on već nakon 15 dana izrade nije bio detektovan.

Kvalitativni i kvantitativni sastavi proteinskih frakcija miofibrilarnih proteina ekstrahovanih iz kobasica C2 i C3 grupe, tokom proizvodnje u drugoj sezoni izrade, prikazani su u tabelama 5.19. i 5.21, u poglavlju Prikaz rezultata. Kako se iz prikazanih rezultata može videti, udeli najznačajnijih miofibrilarnih proteina molekulske mase  $\approx 220$  kDa (miozin) i 45 kDa (aktin) su na kraju procesa proizvodnje obe grupe kobasica bili značajno smanjeni u odnosu na početnu koncentraciju. Ova pojava je posebno bila izražena za miozin, s obzirom da je on u obe posmatrane grupe hidrolizovan u stepenu od oko 95%. Sa druge strane, sadržaj aktina u neupakovanim kobasicama C2 i C3 grupe je na kraju procesa zrenja smanjen za  $\approx 60\%$ , dok je degradacija ovog proteina u kobasicama koje su nakon 60 dana sušenja upakovane u vakuumu bila još intenzivnija ( $\approx 70\%$ ). Dakle, u drugoj proizvodnoj sezoni je usled aktivnosti proteolitičkih enzima došlo do razgradnje aktina, što u prvoj sezoni izrade nije bilo registrovano ni u jednoj eksperimentalnoj grupi. Uzrok ove pojave se opet može potražiti u promenama vrednosti pH, koja je već nakon 15 dana fermentacije u kobasicama obe posmatrane grupe intezivno opala i dostigla vrednost  $\approx 5,0$ . Pri toj vrednosti pH aktivnost endogenih katepsina, a posebno katepsina D je izrazito velika te dolazi do intenzivne razgradnje miozina i aktina na fragmente molekulskih masa  $\approx 135$  i 38 kDa, respektivno, a dolazi i do formiranja frakcija od  $\approx 29$  i 13 kDa (Toldrá, 2002). Upravo ovakav razvoj procesa hidrolize miofibrilarnih proteina je uočen tokom zrenja kobasica C2 i C3 grupe. Naime, istodobno sa razgradnjom miozina i aktina došlo je do akumulacije polipeptida molekulske mase  $\approx 160, 145, 41$  i 39 kDa, kao i više proteinskih frakcija u rasponu molekulskih masa od 14 do 35 kDa. Na osnovu dobijenih rezultata u ovom ogledu, kao i publikovanih rezultata više autora (Dalmiř i Soyer, 2008; Hughes i sar., 2002; Martín i sar., 2001; Candogan i sar., 2009; Martín-Sánchez i sar., 2011; Casquete i sar., 2011) može se zaključiti da je značajna degradacija aktina karakteristična za kobasice sa nižom vrednosti pH, dok to nije slučaj sa proizvodima u kojima dolazi do neznatnog ili manjeg pada ove vrednosti tokom proizvodnje (Díaz i sar., 1997; Casaburi i sar. 2007; Roseiro i sar., 2008).

Analizom rezultata prikazanih u tabelama od 5.22. do 5.29, može se videti da je i tokom zrenja kobasica izrađenih u trećoj proizvodnoj sezoni (D1, D2, E1, E2) došlo do

značajne izmene kvalitativnog i kvantitativnog sastava ekstrakata sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina. Takođe, uočava se određena razlika u promeni koncentracije pojedinih proteinskih frakcija u kobasicama izrađenim sa i bez starter kulture, i sušenim u tradicionalnim i kontrolisanim uslovima. Tako je na primer sadržaj polipeptida sa najvećim udelom u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina sirovog nadeva, molekulske mase  $\approx 43$  kDa, u svim grupama značajno smanjen u odnosu na početnu koncentraciju (Tabele 5.22, 5.24, 5.26, 5.28), ali je procenat hidrolize na kraju procesa proizvodnje ipak bio najveći u grupi E2 ( $\approx 90\%$ ), a najmanji u grupi D1 ( $\approx 70\%$ ). Istodobno, udeo frakcije bliske molekulske mase  $\approx 40$  kDa je višestruko povećan kao rezultat prethodno pomenute degradacije. Ova pojava je najverovatnije direktna posledica različite evolucije vrednosti pH u pojedinim grupama kobasica tokom proizvodnje (Tabela 5.4. i Grafik 5.9), a koja presudno utiče na aktivnost proteinaza mišićnog tkiva, kao i na rast i razvoj mikroorganizama koji iskazuju proteolitičku aktivnost (Lizaso i sar., 1999; Molly i sar., 1997; Toldrá i Flores, 2000; Toldrá, 2002; 2006a; Casaburi i sar., 2005; 2007; Bonomo i sar., 2009). Frakcije od  $\approx 55$  i 100 kDa su nestale u svim grupama kobasica ali je hidroliza bila brža u kobasicama sušenim u kontrolisanim uslovima. Takođe, udeo više proteinskih frakcija manjih molekulskih masa od 30 kDa je povećan u svim grupama kobasica, što je u saglasnosti sa publikovanim rezultatima više autora (Hughes i sar., 2002; Di Luccia i sar., 2005; Dalmış i Soyer, 2008; Spaziani i sar., 2009; Martín-Sánchez i sar., 2011).

Udeli osnovnih miofibrilarnih proteina molekulske mase  $\approx 220$  kDa (miozin) i 45 kDa (aktin) su na kraju procesa proizvodnje sve četiri grupe kobasica bili značajno smanjeni u odnosu na početnu koncentraciju (Tabele 5.23, 5.25, 5.27. i 5.29). U kobasicama svih eksperimentalnih grupa D1, D2, E1 i E2 došlo je skoro do potpune hidrolize i nestanka HMM-a, a njegov udeo na kraju procesa proizvodnje je u svim grupama iznosio manje od 1%. U ovom slučaju nisu uočene značajnije razlike između grupa proizvedenih sa i bez starter kulture, dok je sušenje u kontrolisanim uslovima, pri višim inicijalnim temperaturama (Grafik 5.7) doprinelo da razgradnja miozina u kobasicama E1 i E2 grupe bude nešto brža. Ovakvi rezultati se podudaraju sa ranije publikovanim rezultatima drugih autora (Díaz i sar., 1997; Toldrá, 1998; Casaburi i sar., 2007; Roseiro i sar., 2008; Casquete i sar., 2011; Spaziani i sar., 2009), koji su takođe utvrdili značajnu razgradnju teškog meromiozina tokom zrenja kobasica. Aktin je tokom procesa zrenja pokazao veću stabilnost u odnosu na teški meromiozin. Na početku procesa proizvodnje udeo ovog proteina u nadevu izrađenom bez starter kulture (D1 i E1) je iznosio 39,0%, dok je u nadevu u koji je dodata starter kultura (D2



i E2) taj udeo iznosio 40,2%. Na kraju procesa proizvodnje (120. dan) udeo aktina u neupakovanim kobasicama D1, D2, E1 i E2 grupe je iznosio 25,4%, 15,3%, 17,5% i 12,3%, respektivno. Kada se na osnovu ovih podataka izracuna koji deo inicijalno prisutnog aktina je hidrolizovan tokom proizvodnje dobijaju se sledeci rezultati: grupa D1 - 35%, grupa D2 - 62%, grupa E1 - 55% i grupa E2 - 69%. Dakle, najmanja razgradnja aktina je registrovana u kobasicama grupe D1, proizvedenim bez dodatka starter kulture i pri nizim temperaturama tokom prirodnog procesa sušenja i zrenja u tradicionalnim uslovima (Grafik 5.6). Nasuprot, najveća razgradnja ovog proteina je detektovana u grupi E2, proizvedenoj uz dodatak starter kulture i pri visim inicijalnim temperaturama (Grafik 5.7), što je izazvalo brži pad vrednosti pH i najverovatnije aktivaciju mišićnih proteinaza i nekih mikrobnih enzima. Ovaj rezultat je u saglasnosti sa prethodno objavljenim rezultatima više autora (Martín i sar., 2001; Hughes i sar., 2002; Dalmış i Soyer, 2008; Roseiro i sar., 2008; Spaziani i sar., 2009), koji su utvrdili značajnu degradaciju aktina u kobasicama izrađenim kako bez, tako i uz dodatak starter kulture. Na osnovu navedenih rezultata može se zaključiti da uslovi proizvodnje, kao i prisustvo starter kulture, imaju značajan uticaj na razgradnju aktina, jer je u grupama proizvedenim u kontrolisanim uslovima (viša temperatura), kao i u grupama sa starter kulturom, došlo do značajnije hidrolize ovog proteina.

Istovremeno sa degradacijom teškog meromiozina ( $\approx 220$  kDa) došlo je do značajnog porasta udela proteinskih frakcija od  $\approx 140$  i  $158$  kDa, što je najverovatnije izazvano zajedničkim kretanjem produkata razgradnje. Ova pojava je bila izraženija kod kobasica izrađenih sa starter kulturom. Kako je ranije već napomenuto, razlaganje teškog meromiozina na frakcije molekulske mase od  $120$  do  $150$  kDa su prethodno zapazili Candogan i sar. (2009), Spaziani i sar. (2009) i Martín-Sánchez i sar. (2011) ispitujući proces proteolize u fermentisanim kobasicama. Takođe, tokom zrenja sve četiri grupe kobasica registrovan je porast koncentracije više proteinskih frakcija u intervalu molekulskih masa od  $\approx 14$  do  $42$ , kao i akumulacija polipeptida od  $\approx 68$  i  $76$  kDa. Nastanak i akumulacija više proteinskih frakcija u rasponu molekulskih masa od  $\approx 14$  do  $45$  i od  $\approx 50$  do  $100$  kDa, tokom zrenja proizvoda od mesa, je prethodno uočen od strane većeg broja autora (Hughes i sar., 2002; Toldrá, 2002; Soriano Pérez i García Ruiz, 2003; Dalmış i Soyer, 2008; Candogan i sar., 2009; Spaziani i sar., 2009; Martín-Sánchez i sar., 2011). Zanimljiv je ipak rezultat da je više novonastalih frakcija registrovano u kobasicama sušenim u kontrolisanim uslovima pri visim inicijalnim temperaturama. Takođe, u ovim grupama kobasica (E1 i E2), a posebno u onoj sa dodatkom starter kulture (E2), je zabeležen i nestanak, odnosno totalna razgradnja većeg broja frakcija,

u poređenju sa kobasicama sušenim u tradicionalnim uslovima, čime je još jednom potvrđen pozitivan uticaj temperature, ali i prisustvo mikroorganizama i njihovih enzima na intenzitet procesa proteolize (Toldrá i sar., 1992; Toldrá, 2002; Casaburi i sar., 2005; 2007; Krvavica i sar., 2007; Bonomo i sar., 2009; Aro Aro i sar., 2010).

U prethodnom tekstu detaljno je razmotren uticaj pomenutih varijabilnih faktora na intenzitet i brzinu sušenja i zrenja, odnosno na ukupan tok procesa proizvodnje svih devet eksperimentalnih grupa *Petrovačke kobasice*. Međutim, konačnu ocenu primenjenih modela sušenja i zrenja kobasica, kako u tradicionalnim, tako i u kontrolisanim uslovima, moguće je doneti tek nakon analize kvaliteta finalnih proizvoda. Stoga su u poglavlju 5.2.C. prikazani rezultati ispitivanja teksture (čvrstoće) i senzornog kvaliteta svih izrađenih kobasica.

Kako se u tabeli 5.30. može videti, sila probijanja nakon dva dana proizvodnje je bila najmanja za kobasice grupe C3, a iznosila je svega 2,00 N. Razlog ovako niske čvrstoće kobasica ove grupe najverovatnije potiče od povećanog sadržaja masti u osnovnoj formulaciji nadeva, koji je iznosio 22,4% (rezultat nije prikazan). Međutim, sličan sadržaj masti je utvrđen i u ručno mešanom nadevu za kobasice izrađenom u istoj proizvodnoj sezoni (C2), ali je u kobasicama te grupe, nakon 2. dana izrade, registrovana veća sila probijanja (2,45 N). Dakle, može se zaključiti da ručni način mešanja doprinosi većem slepljivanju partikula mišićnog i masnog tkiva tokom procesa proizvodnje *Petrovačke kobasice*. Naime, kako je već opisano u poglavlju 2.5, tradicionalni način mešanja podrazumeva upotrebu značajne mehaničke sile horizontalnim pokretima ruke, kako bi se velika količina crvene mlevene začinske paprike (2,50%) uniformno rasporedila u masi nadeva. Tako intenzivan način mešanja, uz gnječenje i trenje, najverovatnije dovodi do razaranja strukture mišićnih vlakana i brže ekstrakcije proteina (primarno miozin i aktin) pod uticajem dodate soli. Rastvoreni proteini na površini komadića mišićnog tkiva formiraju lepljivi film, koji sa padom vrednosti pH prelazi u gel, te dolazi do slepljivanja partikula mesa i povezivanja nadeva u kompaktnu celinu (Fretheim i sar., 1985; Vuković, 2006; Barbut, 2007). Sa druge strane, najveća sila probijanja nakon 2. dana proizvodnje je iznosila 3,49 N, a registrovana je za kobasice E2 grupe. Razlog značajno veće ( $P < 0,05$ ) čvrstoće kobasica E2 grupe već na početku procesa proizvodnje se ponovo primarno može potražiti u osnovnom sirovinskom sastavu nadeva izrađenog u trećoj proizvodnoj sezoni, koji je sadržao manju količinu masti ( $\approx 14\%$ ), odnosno veću količinu mišićnog tkiva. Dodatno, kobasice B4, E1 i E2 grupe su vrlo intenzivno sušene u kontrolisanim uslovima već u fazi dimljenja, što je uticalo da one već nakon dva dana imaju značajno veću čvrstoću. Dakle, s opadanjem sadržaja vode u toku proizvodnje, konzistencija

kobasica postaje čvršća (Warnants i sar., 1998; Vuković, 2006; Lorenzo i sar., 2012), te su registrovane sile probijanja na kraju procesa sušenja za kobasice svih devet izrađenih grupa bile višestruko veće nego na početku proizvodnje, a varirale su u intervalu od 5,79 N (C3) do 12,4 N (D1). Ukoliko se registrovana čvrstoća kobasica na kraju procesa sušenja dovede u vezu sa rezultatima utvrđenim za ukupan senzorni kvalitet (%), prikazanim na grafiku 5.18, može se uočiti da su kobasice grupa B2, D1 i D2, za koje su na kraju sušenja registrovane najviše sile probijanja (11,8 N, 12,4 N i 11,4 N, redom), istovremeno bile i najbolje senzorno ocenjene (99,7%, 85,9%, 90,5% ukupnog kvaliteta, redom), što je u skladu sa zahtevom Tehnološkog elaborata na osnovu kojeg je zaštićena oznaka geografskog porekla ove kobasice (Petrović i sar., 2007), a kojim je propisano da sila probijanja (čvrstoća) na kraju procesa proizvodnje (sušenja) treba da bude u intervalu od 10 do 15 N. U periodu od kraja procesa sušenja do 120. dana sila probijanja je dodatno, statistički značajno, narasla ( $P < 0,05$ ) za većinu eksperimentalnih grupa kobasica, a to je posebno bilo izraženo za kobasice koje nisu bile upakovane, gde je taj pokazatelj varirao u intervalu od 9,07 N - C2 do 41,4 N - D2, zbog prekomernog sušenja. Sile probijanja za kobasice koje su po završetku sušenja upakovane u vakuumu ili modifikovanoj atmosferi su bile značajno manje ali su takođe varirale u širokom rasponu vrednosti od 4,55 N - C2M do 21,1 - D1V. Tako su za upakovane kobasice A2, C2 i C3 grupe, nakon 120. dana, registrovane niske vrednosti čvrstoće, koje su se kretale u intervalu od 4,55 N - C2M do 6,82 N - A2V, a koje su bile slične onim vrednostima ovog pokazatelja koje su utvrdili Severini i sar. (2003) ispitujući teksturu suve italijanske salame tokom 55 dana sušenja i zrenja (20°C i 80% RV). Nasuprot, registrovane sile probijanja za kobasice grupa B2, B4, D1, D2, E1 i E2 su bile značajno više ( $P < 0,05$ ), varirajući u intervalu od 11,1 - E2V do 21,1 - D1V, a opet slične vrednostima ovog parametra utvrđenim od strane Warnants-a i sar. (1998) za fermentisane kobasice sušene 11 nedelja (16°C i 83% RV).

Kako se na grafiku 5.17. može videti vrednost odnosa sile probijanja (N) između unutrašnje i spoljašnje frakcije svih izrađenih grupa kobasica je u većem delu perioda proizvodnje bila manja od 1, što znači da je čvrstoća, odnosno sila probijanja (N) uglavnom bila veća za spoljašnje frakcije kobasica. Ovaj rezultat je u skladu sa prethodno predočenim rezultatima odnosa sadržaja vlage u unutrašnjoj i spoljašnjoj frakciji. Tako je na primer 30. dana za kobasice B4 grupe registrovana najviša vrednost odnosa sadržaja vlage (1,71) i najniža vrednost odnosa sile probijanja (0,50) u frakcijama. Ove vrednosti ukazuju na činjenicu da su nakon mesec dana proizvodnje spoljašnje frakcije kobasica B4 grupe bile znatno suvlje, a posledično i duplo čvršće od unutrašnjih. Kako je prethodno navedeno,

parametri vazduha u industrijskoj komori tokom proizvodnje kobasica B4 grupe (Grafik 5.4) su bili podešeni tako da promovišu proces sušenja, odnosno isparavanja vode sa površine kobasica (niska RV vazduha i relativno velika brzina strujanja vazduha – rezultat nije prikazan), te je nakon 30 dana procesa, iz površinskog sloja kobasica verovatno isparila sva slobodna voda. Posledično, formiran je periferni rub („prsten“) koji je direktno uticao na povećanje sile probijanja (N) u tom delu kobasice. U narednom periodu od 90 dana brzina strujanja vazduha u komori je svedena na minimum, a voda je zahvaljujući koncentracionom gradientu migrirala od centra ka periferiji, te je došlo do omekšavanja tvrdog ruba, a samim tim i povećanja posmatranog odnosa.

U poglavlju 4.2.4. detaljno je opisan način ocenjivanja ukupnog senzornog kvaliteta izrađenih kobasica (%). Na osnovu navedenog, može se zaključiti da visina vrednosti ovog kompleksnog pokazatelja kvaliteta, dobijenog ocenjivanjem pet senzornih svojstava proizvoda, najviše zavisi od mirisa i ukusa, s obzirom na najveći koeficijent važnosti ovog svojstva (7). Analizom rezultata prikazanih na grafiku 5.18. može se uočiti da je za kobasice B2 grupe, proizvedene od hladnog mesa i sušene u tradicionalnim uslovima domaćinstva B u prvoj proizvodnoj sezoni, tokom čitavog perioda proizvodnje (120 dana) utvrđen najveći procenat ukupnog senzornog kvaliteta. Najviša vrednost ovog pokazatelja je utvrđena 90. dana, po završetku procesa sušenja (99,7%), da bi tokom sledećih 30 dana zrenja neznatno opala, kako za neupakovane, tako i za upakovane kobasice, ali nikada nije bila manja od 98,5%. Takođe, na istom grafiku se može videti da su pored kobasica iz grupe B2 i kobasice ostale tri grupe sušene u tradicionalnim uslovima, tokom 90 dana, bile relativno visoko senzorno ocenjene (84,7% - A2; 85,9% - D1; 90,5% - D2). Međutim, dok je senzorni kvalitet kobasica A2 grupe nakon 30 dana zrenja neznatno porastao, kobasice D1 i D2 grupe su izgubile deo svog senzornog kvaliteta  $\approx 5\%$ , što je najverovatnije posledica neodgovarajućih termo-higrometrijskih uslova u komori za zrenje (Grafik 5.7). Interesantno je zapaziti da su kobasice B4 grupe, odmah nakon perioda sušenja (45. dan), bile relativno visoko senzorno ocenjene (85,9%) i pored evidentnih nedostataka teksture, odnosno razlika u vlažnosti i čvrstoći između unutrašnje i spoljašnje frakcije (periferni rub – „prsten“) (Grafik 5.10. i 5.17), izazvanih intenzivnim sušenjem u kontrolisanim uslovima (Grafik 5.4). Pretpostavka je bila da će ove kobasice nakon sledećih 75 dana zrenja u vakuumu ili modifikovanoj atmosferi imati veći ukupni senzorni kvalitet usled izjednačavanja sadržaja vlage u frakcijama, međutim to se nije desilo jer je i pored povećanja senzorne ocene za tvrdoću (4,15 – B4V; 4,32 – B4M) došlo do pada vrednosti ocene nekih drugih senzornih svojstava u većem stepenu (spoljašnji

izgled i izgled i sastav preseka – rezultati prikazani u Tabeli 1, Prilog 2). Za razliku od kobasica B4 grupe, pakovanje u vakuumu (V) ili modifikovanoj atmosferi (M), po završetku procesa sušenja, je pozitivno uticalo na ukupni senzorni kvalitet kobasica C2, C3 i E1 grupe. Posebno je značajan podatak da su kobasice proizvedene u drugoj sezoni i sušene 60 dana u kontrolisanim uslovima (C2, C3), nakon sledećih 60 dana zrenja u vakuumu, imale veoma visok ukupan senzorni kvalitet od 89,7 i 88,9%, redom. Nešto manji procenat ukupnog senzornog kvaliteta je utvrđen za kobasice ovih grupa upakovane u modifikovanoj atmosferi (86,7 i 85,9%). Predočeni rezultati pokazuju da je u kontrolisanim uslovima, uz kraći period sušenja (60 dana), moguće proizvesti *Petrovačku kobasicu* visokog senzornog kvaliteta. Naime, nakon završetka procesa sušenja, uz postizanje odgovarajućeg sadržaja vlage (32 – 33%), kobasice treba upakovati pod vakuumom i čuvati narednih 60 dana radi zrenja. Dakle, ukupan period proizvodnje ostaje isti kao i u tradicionalnim uslovima (120 dana), ali je proces sušenja znatno kraći, što je izuzetno značajno sa aspekta efikasnog iskorišćenja prostornih kapaciteta komora za sušenje, energije, radne snage, odnosno ukupne ekonomičnosti proizvodnje ove tradicionalne suve fermentisane kobasice.

Nakon što su predočeni i analizirani svi dobijeni rezultati, može se dati odgovor na ključno pitanje vezano za potvrdu osnovne hipoteze ovih istraživanja, odnosno ostvarenje postavljenog cilja. Naime, kao što je u uvodnim razmatranjima ovog poglavlja navedeno, suštinski je bilo potrebno da se uoči „optimalni“ model izrade *Petrovačke kobasice* u tradicionalnim uslovima, kao i jasne korelativne veze između procesnih parametara i ukupnog kvaliteta te kobasice, radi daljeg razvoja procesa sušenja i zrenja ovog proizvoda u kontrolisanim uslovima. U poglavlju Zadatak rada, a i tokom razmatranja dobijenih rezultata u ovom poglavlju, već je većim delom objašnjena postavka izvedenih eksperimenata u prvoj sezoni. Naime, trebalo je definitivno razmotriti mogućnost datu u Tehnološkom elaboratu (Petrović i sar., 2007) da se ova kobasica može izrađivati i od toplog mesa (što je još uvek prilično rasprostranjena praksa na području opštine Bački Petrovac), iako je prednost data izradi od ohlađenog mesa. Iz tog razloga je u decembru mesecu prve sezone, prema identičnom postupku, izrađena *Petrovačka kobasica* od toplog mesa (cca 3h *post mortem*) A2 (domaćinstvo A), a od ohlađenog mesa (cca 24h *post mortem*) B2 (domaćinstvo B). Proces dimljenja i sušenja je započet istog dana u oba domaćinstva, a registrovani termohigrometrijski uslovi tokom 90 dana proizvodnje u tradicionalnim prostorijama su dati na grafiku 5.1. i 5.2. Sumiranjem rezultata ispitivanja kinetike sušenja kobasica A2 i B2 grupe (Tabela 5.1, 5.2, 5.3. i Grafik 5.8) i predočene analize tih rezultata može se zaključiti da su

vrednosti pokazatelja brzine i intenziteta sušenja kobasica A2 i B2 grupe donekle različite, te da upotreba toplog, odnosno hladnog mesa u proizvodnji *Petrovačke kobasice* ima uticaja na brzinu i intenzitet sušenja. Neki autori (Lücke i Vogeley, 2012) sugerišu da toplo meso ima veću SVV, te da je za sušenje i zrenje tako izrađenih kobasica, pri niskim temperaturama, potreban duži vremenski period. Međutim, na osnovu rezultata dobijenih u ovom radu to se ne može potvrditi. Nasuprot, vrednosti nekih pokazatelja ukazuju na nešto intenzivnije sušenje kobasica izrađenih od toplog mesa (veći gubitak mase, manji sadržaj vlage), te treba uzeti u obzir i druge pokazatelje kinetike sušenja i zrenja, kao i kvaliteta kobasica A2 grupe tokom čitavog perioda proizvodnje pri donošenju konačnog zaključka o mogućnosti upotrebe toplog mesa u izradi *Petrovačke kobasice*.

Nema sumnje da je u domaćinstvu A, pri dimljenju kobasica A2 grupe, na samom početku procesa, tj. 3. dana (Grafik 5.1) registrovana temperatura od 14,6°C (verovatno nepažnjom domaćina). Istovremeno, u domaćinstvu B, u toj fazi procesa, prosečna temperatura je bila niža, a maksimalna zabeležena vrednost ovog parametra (Grafik 5.2) nije prešla 11,0°C. Zatim je u fazi sušenja, kada su inače vladale niske spoljašnje temperature, u prostoriji za sušenje domaćinstva B održavana prosečno nešto viša temperatura nego u domaćinstvu A. Dakle, raniji početak pada vrednosti pH i niža vrednost ovog parametra na kraju procesa sušenja kobasica A2 grupe (Tabela 5.4), a zatim i slabiji senzorni kvalitet tokom i na kraju procesa proizvodnje u odnosu na kobasice B2 grupe (Grafik 5.18), verovatno nisu uzrokovani samo prethodno opisanim razlikama u promeni temperature, nego se uzrok pre svega može potražiti u različitom mikrobiološkom profilu nadeva izrađenog od toplog, odnosno hladnog mesa, a zatim i u različitoj promeni profila BMK kobasica tokom procesa proizvodnje. Naime, kako su Danilović i sar. (2011) i Danilović (2012) utvrdili mikrobna populacija BMK nadeva izrađenog od toplog mesa (A2 grupa) bila je sastavljena samo od predstavnika enterokoka (*En. durans* – 43%; *En. casseliflavus* – 47%). Već nakon 6. dana procesa enterokoke nisu izolovane iz analiziranih uzoraka. S druge strane, pediokoke i leukonostoci, koji su izolovani nakon 2 dana, su takođe pronađeni u uzorcima i tokom narednih dana do kraja procesa sušenja (90. dan). Sadržaj *Pd. pentosaceus* se povećava do 9. dana sušenja i zrenja, kada postiže udeo od 45% mikrobne populacije BMK. Nakon toga prisustvo pediokoka se smanjuje i kreće u granicama 10 – 30% do kraja procesa proizvodnje. Vrsta *Ln. mesenteroides* je izolovana iz svih analiziranih kobasica A2 grupe nakon 2. dana procesa i njena zastupljenost je bila skoro konstantna počev od 30. dana proizvodnje i iznosi 45 – 50%. *Lb. sakei* je prvi put izolovan nakon 6 dana procesa i njegova zastupljenost se

naglo povećava sa 20 na 50% nakon 9. dana. Nakon 30. dana učestalost izolacije ove vrste je skoro stalna i iznosi oko 25% mikrobne populacije BMK u uzorcima. Nasuprot tome, *Lb. curvatus* je detektovan u znatno manjem broju i to samo u dva uzorka, nakon 12. i 90. dana proizvodnje.

Suprotno od nadeva izrađenog od toplog mesa (A2), u nadevu kobasica izrađenog od hladnog mesa (B2) mikrobnu populaciju BMK su činile pored enterokoka (*En. durans* – 48%) i *Pd. pentosaceus* (32%) i *Ln. mesenteroides* (20%). Već nakon 2 dana procesa došlo je do značajne promene mikrobne populacije, kada su koke koje su prisutne u nadevu, u potpunosti zamenjene laktobacilima (*Lb. curvatus* i *Lb. sakei*) i bakterijama vrste *Ln. mesenteroides*. Tokom 90 dana proizvodnje *Petrovačke kobasice* B2 grupe zapažena je dominacija vrste *Lb. sakei* (od 9. dana na nivou od 75%). Određivanjem fermentacionih karakteristika izolata u model medijumu Danilović (2012) je zaključila da su pediokoke najbolji acidifikatori, kao i da imaju najveću maksimalnu specifičnu brzinu rasta i maksimalne specifične brzine potrošnje glukoze i sinteze mlečne kiseline. Proteolitička aktivnost je primećena samo za određene izolate *Lb. sakei* i *Pd. pentosaceus*. Vrsta *Lb. sakei* je pokazala i dobru sintezu mlečne kiseline, dobru prilagođenost uslovima rasta u nadevu na niskim temperaturama, te veliku učestalost izolacije iz uzoraka kobasica izrađenih od hladnog mesa (B2 grupa). Te kobasice su u prvoj sezoni, na kraju procesa sušenja i zrenja (90. i 120. dan) imale vrhunski senzorni kvalitet (99,7% i 99,1% ukupnog kvaliteta, redom) (Grafik 5.18). Na osnovu navedenog vrsta *Lb. sakei* je ocenjena kao najpogodnija za upotrebu u starter kulturi pri proizvodnji *Petrovačke kobasice* u kontrolisanim uslovima.

Istovremeno, kobasice A2 grupe, izrađene od toplog mesa, su na kraju procesa sušenja 90. dana senzorno ocenjene sa 84,7% ukupnog kvaliteta, a na kraju procesa zrenja 120. dana sa 85,4% ukupnog kvaliteta. S obzirom da je pri zaštiti *Petrovačke kobasice* (Petrović i sar., 2007) zadato da ukupni senzorni kvalitet ovog proizvoda sa oznakom geografskog porekla mora biti minimalno 90% od ukupnog senzornog kvaliteta (prosečna ponderisana ocena 4,5), te da kobasica A2 grupe nije imala taj kvalitet, u prvom redu, kako je prethodno objašnjeno, usled očekivane (Bem i Adamič, 1991) i potvrđene razlike u mikrobiološkom profilu BMK, može se konačno zaključiti da je ohlađeno meso pogodnije za izradu *Petrovačke kobasice*, od toplog mesa. Dodatno, izučavajući formiranje biogenih amina u istim grupama *Petrovačkih kobasica*, Tasić (2012) zaključuje da je nastanak feniletilamina, kao pokazatelja DPP (<30 mg/kg), u količini od 33,2 – 51,6 mg/kg, u kobasicama izrađenim od toplog mesa, još jedna potvrda prednosti upotrebe ohlađenog mesa pri izradi *Petrovačke kobasice*.

Prethodna analiza je pokazala da su u prvoj sezoni kobasice izrađene od hladnog mesa (B2 grupa), po tradicionalnom postupku na kraju procesa sušenja (90. dan) i zrenja (120. dan), imale vrhunski, odnosno „optimalni“ kvalitet. Profil mikrobne populacije BMK nadeva, kao i promena sastava tokom procesa proizvodnje su takođe detaljno predloženi, te je na kraju potrebno još istaći korelativnu vezu između procesnih parametara i pokazatelja kinetike sušenja i zrenja, koja je rezultirala optimalnim senzornim kvalitetom, a taj model sušenja i zrenja smatrati OPTIMALNIM i za ostvarenje vrhunskog kvaliteta *Petrovačke kobasice* u kontrolisanim uslovima proizvodnje.

Prosečna temperatura, tokom čitavog perioda dimljenja i sušenja kobasica B2 grupe, je iznosila 7,7°C (Grafik 5.2). Porast temperature iznad 10°C, naročito u fazi dimljenja, može da ubrza fermentaciju, uslovi brži pad vrednosti pH, poveća brzinu sušenja i izmeni kinetiku zrenja, odnosno konačni kvalitet kobasica, a posebno u zavisnosti od početnog profila mikrobne populacije BMK. Otuda se nameće zaključak da temperatura vazduha za sušenje ne treba da prelazi vrednost od 10°C tokom celokupnog procesa proizvodnje.

Prateći prosečne vrednosti gubitka mase (%), u tradicionalnim uslovima proizvodnje, kobasica B2 grupe (Tabela 5.1) može se opisati potrebni – optimalni tok sušenja, koji će uz druge varijabilne faktore u uočenim odnosima rezultirati optimalnim kvalitetom kobasica. Dakle, već je istaknuto da procesni parametri treba da promovišu sporo sušenje, naročito u početnoj fazi. Prema predloženi podacima (Tabela 5.1, 5.5. i Grafik 5.10) to znači da u fazi dimljenja, tj. na samom početku sušenja, gubitak mase treba da je na nivou od ≈15%, da za narednih 15 dana (do 30. dana procesa) kobasice izgube još ≈10% svoje inicijalne mase (ukupno ≈25%), a da onda do kraja procesa sušenja ukupni gubitak mase treba da bude između 35 i 40%.

Ovu kinetiku sušenja, pored procesnih parametara, koji nedvosmisleno najznačajnije utiču na tok sušenja, treba da obezbedi i veoma mala fermentacija, odnosno mali pad vrednosti pH. Kao što je u tabeli 5.4. i na grafiku 5.9. predloženo kobasice B2 grupe, proizvedene u prvoj proizvodnoj sezoni, imale su neznatnu promenu vrednosti pH. Od ≈5,70, koliko je imao nadev ovih kobasica, do 60. dana proizvodnje vrednost pH je opala na 5,40. Od tog trenutka usled razgradnje proteina, odnosno nastanka manjih peptida, aminokiselina, amonijaka i amina vrednost ovog pokazatelja je počela da raste (Kaban i Kaya, 2009, Spaziani i sar., 2009; Ikonić i sar., 2010; Flores i Toldrá, 2011), te je na kraju procesa zrenja (120. dan) dostigla vrednost od ≈5,6 u neupakovanim i u kobasicama upakovanim u vakuumu, a samo nešto viša vrednost pH je postignuta u kobasicama upakovanim u



modifikovanoj atmosferi (5,67). Ovakav tok promene vrednosti pH je verovatno obezbeđen niskom ambijentalnom temperaturom i početnim profilom mikrobne populacije BMK, ali i ukupne mezofilne mikroflora, koja je verovatno metabolisala (fermentisala) samo dodati šećer (kristal šećer, 0.15%), a ne i složenije ugljene hidrate prisutne u paprici (Vuković, 2006).

Kada je u pitanju kinetika zrenja, u prethodnom delu ovog poglavlja, već su analizirani utvrđeni pokazatelji za kobasicu B2 grupe. Ukratko, rezimirajući, može se reći da optimalni model kinetike zrenja podrazumeva nisku aktivnost katepsina D, produženu inicijalnu fazu proteolize (relativno manji rast IP), a zatim razgradnju miofibrilarnih proteina (HMM), ali ne i hidrolizu aktina. U tim okolnostima, vrednost pH (5,4 – 5,6), visok sadržaj NaCl u centralnim frakcijama (Grafik 5.13), jer je 90. dana sušenja odnos sadržaja pepela u frakcijama bio najveći za kobasicu B2 grupe (1,66) i tek razlabavljena struktura miofibrila doprinose dobrom bubrenju, odnosno sprečavanju gubitka vode, povezivanju i geliranju partikula mišićnog tkiva, što rezultira nešto tvrđom (11,8 N i 5,00 senzorna ocena teksture), ali optimalnom teksturom (10 – 15 N) (Petrović i sar., 2007) i dobrim ukusom i mirisom (90. i 120. dana je ocena ovog senzornog svojstva bila  $\geq 4,93$  – Tabela 1, Prilog 2).

U nastavku se relativno jednostavno može obrazložiti zašto već u prvoj sezoni isti nadev od kojeg su izrađene kobasice B2 grupe, u tradicionalnim uslovima proizvodnje (optimalni kvalitet), primenom brzog modela sušenja i zrenja u industrijskim uslovima, nije rezultirao kobasicom vrhunskog kvaliteta. Naime, kao što je već predočeno u prethodnom delu ovog poglavlja, pri postavljanju modela sušenja za kobasice B4 grupe učinjena je zapravo loša procena da se kobasice mogu osušiti za 45. dana i da se pri tome može obezbediti i odgovarajući tok zrenja i senzorni kvalitet. Parametri vazduha, podešeni za brzo sušenje, pre svega niska relativna vlažnost (83%), nešto viša temperatura u fazi dimljenja (3 dana, 10,3°C) i intenzivno strujanje vazduha (Grafik 5.3. i 5.4), uslovili su znatno brže sušenje i veći gubitak mase, od onog koji je prethodno predočen za optimalni model (Tabela 5.1). Potom, brzu fermentaciju i veći pad vrednosti pH (Tabela 5.4), te nešto drugačiji tok zrenja, zbog smanjene aktivnosti enzima izazvane velikim padom aktivnosti vode nakon svega 45 dana proizvodnje (Tabela 5.3). Sve navedeno je uslovalo značajno slabiji ukupni senzorni kvalitet ovih kobasica (85,9% - kraj sušenja; 78,1% - kraj procesa proizvodnje).

Na osnovu predočenih eksperimentalnih podataka dobijenih praćenjem kinetike sušenja i zrenja kobasica B4 grupe i matematičkih modela koji dobro aproksimiraju te podatke (Tabela 5.7), izračunato je da bi odgovarajući sadržaj vlage u ovim kobasicama (32 –

33%) bio postignut za  $\approx 60$  dana, što je za dalje modelovanje kinetike sušenja u kontrolisanim uslovima bilo od velike važnosti (2. i 3. sezona).

Kao što je u Zadatku rada i u prethodnoj diskusiji već izneto, u drugoj sezoni je trebalo nadev izrađen u zimskom periodu na tradicionalan način, ali u registrovanom objektu, sušiti po modelu koji za 60 dana treba da obezbedi sadržaj vlage u kobasicama od 32 – 33%, zatim kobasice ostaviti neupakovane i upakovati ih u vakuumu ili modifikovanoj atmosferi, te ostaviti na zrenju do 120. dana, kada bi trebao biti ostvaren vrhunski kvalitet tih kobasica. Istovremeno, kao što je istaknuto, trebalo je proveriti značaj i neophodnost tradicionalnog mešanja nadeva u odnosu na mašinski (C2 i C3 grupe kobasica).

Iako je u formulaciji nadeva kobasica C2 i C3 grupe došlo do izvesne greške, tj. odstupanja od preporučenih kriterijuma\* DPP pri izradi *Petrovačke kobasice*, te je u nadevu bilo više masti (preporuka  $\leq 20\%$ , a utvrđene vrednosti: 23,4% - C2; 22,4% - C3, rezultati nisu prikazani), ipak se može tvrditi da su kobasice obe grupe, uz izvesne razlike u kinetici sušenja između njih, i pored poznatog uticaja povećanog sadržaja masti na sporiji tok procesa sušenja (Papadima i Bloukas, 1999; Vuković, 2006), osušene za zadatih 60 dana. Najpre, optimalnih  $\approx 32\%$  vlage na kraju sušenja utvrđeno je u kobasicama C3 grupe (32,3%) i nešto više u kobasicama C2 grupe (33,9%), ali ne i više od zahtevanih 35% (Sl. glasnik RS, br. 31/2012). Do 30. dana sušenja kobasice C2 grupe su izgubile  $\approx 25\%$  svoje početne mase, dok su kobasice C3 grupe u istom periodu imale nešto veći gubitak mase (27,1%). U narednom periodu, do kraja procesa sušenja kobasice su dodatno gubile masu istom dinamikom, te su utvrđene vrednosti gubitka mase ove dve grupe iznosile 33,2%, odnosno 35,7%, redom (Tabela 5.1).

Ukoliko se sada, zbirno, analiziraju pokazatelji kinetike zrenja i kvaliteta kobasica ove dve grupe na kraju procesa sušenja, može se uočiti da nije ostvaren zadovoljavajući senzorni kvalitet (85,9% - C2; 82,4% – C3). Dakle, do tog perioda, u kinetici fermentacije i zrenja je, verovatno, došlo do odstupanja od prethodno opisanog optimalnog modela ostvarenog u proizvodnji kobasica B2 grupe. To odstupanje je prethodno već uočeno, te je izuzetno važno objasniti zbog čega je do njega došlo i da li je postavljeni model izrade *Petrovačke kobasice* u kontrolisanim uslovima, u drugoj sezoni, ipak dao i u kojoj meri očekivane rezultate. Naime, uočeni brži i veći pad vrednosti pH (Tabela 5.4. i Grafik 5.9), u odnosu na kobasice izrađene u prvoj sezoni, nije mogao biti uzrokovan samo uočenim razlikama u procesnim parametrima (temperatura i relativna vlažnost vazduha) u komori za dimljenje i sušenje, jer su se oni

---

\* Neautorizovani kriterijumi dati članovima ZZ „Kulen“ kao preporuka za standardizaciju sastava nadeva, radi ostvarenja zahteva kvaliteta datih u Tehnološkom elaboratu (Petrović i sar., 2007)

uglavnom kretali u definisanim granicama (Grafik 5.7) za optimalni model, nego se do odgovora mora doći analizom pokazatelja Dobre Higijenske Prakse (DHP) u proizvodnji ove grupe kobasica.

U svim grupama kobasica izrađenih u prvoj sezoni i sušenih u tradicionalnim (A2 i B2) i kontrolisanim uslovima (B4) *Pseudomonas spp.*, *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, aerobne sporogene bakterije i sulfitoredukujuće klostridije nisu nađene. Nasuprot, tokom izrade kobasica C grupe, u drugoj sezoni, utvrđena je kontaminacija mešalice sa *Listeria monocytogenes*, a ova patogena bakterija je nađena i u ručno mešanom nadevu. Takođe, *L. monocytogenes*, *L. innocua* i *L. welshimeri* su utvrđene i u pojedinim uzorcima kobasica C2 i C3 grupe u početnoj fazi sušenja, ali ne i na kraju sušenja i skladištenja. Ovaj rezultat ukazuje na činjenicu da je u zanatskom objektu u kojem su kobasice proizvedene bila loša HP (Završni izveštaj, 2011). Visoka inicijalna kontaminacija, kao što je poznato preusmerava dominaciju pojedinih vrsta BMK i favorizuje rast onih koje će brže dovesti do acidifikacije i eliminacije nepoželjnih mikroorganizama. Odnosno, dešava se da jedna vrsta omogući razvoj drugoj vrsti, otpočinjući razlaganje nekog teško degradabilnog supstrata, kao što su polimeri složenih ugljenih hidrata (u ovom slučaju iz paprike), do monomera, npr. glukoze koju može metabolisati veliki broj mikroorganizama (Ansorena i sar., 2002; Toldrá, 2006b; Talon i sar., 2007; Di Cagno i sar., 2008). To se upravo dogodilo u kobasicama C2 i C3 grupe, a pored brze acidifikacije, u daljem toku zrenja (60 – 120. dan) je došlo do visoke proteolitičke aktivnosti, što je naročito bilo izraženo u upakovanim kobasicama. Kao konačni rezultat, ukupni senzorni kvalitet po završetku procesa zrenja je bio na vrlo visokom nivou za neupakovane kobasice C3 grupe (88,8%), kao i za upakovane kobasice obe grupe, a prvenstveno u vakuumu (89,7% - C2V; 88,9% – C3V). To dalje znači da ukoliko nisu nastale veće greške u sušenju, odnosno ako proces sušenja ne odstupa značajno od optimalnog modela, ekološki sistem *Petrovačke kobasice* ima sposobnost da nadvlada određeni nivo štetne kontaminacije i da u dugotrajnom procesu zrenja, na niskoj temperaturi, doprinese nastanku visokog senzornog kvaliteta kobasica. Naime, kao što je prethodno izneto, u drugoj proizvodnoj sezoni je usled aktivnosti proteolitičkih enzima mišićnog tkiva i verovatno prisutnih mikroorganizama, došlo do razgradnje aktina, što u prvoj sezoni nije bilo registrovano ni u jednoj eksperimentalnoj grupi.

U prilog ovoj tezi idu i rezultati dobijeni izučavanjem formiranja biogenih amina u istim grupama *Petrovačke kobasice* (Tasić, 2012). Naime visok sadržaj kadaverina može biti značajan pokazatelj higijene, s obzirom da ovaj biogeni amin nastaje u prisustvu

kontaminirajućih bakterija koje imaju sposobnost dekarboksilacije lizina (Bover-Cid i sar., 2001). Takođe, suma vazoaktivnih amina se koristi kao mogući indikator higijenskih uslova i DPP (<200 mg/kg) (Eerola i sar., 1998). Kadaverin je u spomenutim istraživanjima nađen u niskim koncentracijama u svim izrađenim grupama kobasica izuzev C2 i C3. Dodatno, suma vazoaktivnih amina je bila veća od limita u ove dve grupe kobasica (330 mg/kg – C2; 248 mg/kg – C3).

Na osnovu veće čvrstoće kobasica C2 grupe u odnosu na kobasice C3 grupe, kako na samom početku proizvodnje (2,45 N i 2,00 N, redom), tako i na kraju procesa sušenja (6,23 N i 5,79 N, redom), zaključuje se da je ručni način mešanja uslovio intenzivnije i brže rastvaranje proteina, odnosno njihovo bubrenje, a posledično i bolje povezivanje partikula mišićnog i masnog tkiva. Takođe, pokazatelji sušenja, poput gubitka mase (%), smanjenja dijametra,  $a_w$  vrednosti i sadržaja vlage ukazuju na sporije sušenje ručno mešanih kobasica. Dakle, sa aspekta povezivanja nadeva i brzine sušenja, ručni način mešanja je nešto pogodniji od mašinskog. Međutim, utvrđene razlike toka procesa sušenja i zrenja nisu značajno uticale na senzorne karakteristike, te je ukupni senzorni kvalitet (%) obe grupe kobasica, koje su po završetku procesa sušenja upakovane u vakuumu, bio na vrlo visokom nivou (89,7% – C2; 88,9% – C3) nakon 120 dana proizvodnje. Otuda se može zaključiti da, iako je uočena izvesna prednost ručnog mešanja nadeva, zarad bezbednosti proizvoda i efikasnosti proizvodnje u kontrolisanim uslovima registrovanog objekta za preradu mesa, mašinski način mešanja može biti uveden u redovnu praksu proizvodnje ove kobasice, uz još izvesnu optimizaciju ove operacije.

Cilj i način na koji su obavljena istraživanja u 3. proizvodnoj sezoni je prethodno u ovom poglavlju već detaljno objašnjen. Ostalo je da se sumiraju i analiziraju ukupno dobijeni rezultati u toj sezoni, odnosno da se predočeni rezultati u ovoj disertaciji dovedu u korelaciju sa rezultatima šire koncipiranih istraživanja (koja nisu deo ove disertacije), te podacima iz literature i na taj način da odgovor na pitanje da li se *Petrovačka kobasica* može izraditi na tradicionalan način i u kontrolisanim uslovima (po zadanom modelu), van uobičajenog perioda proizvodnje (dva meseca kasnije - februar). Uz pretpostavku da će drugačije spoljašnje klimatske prilike, a pre svega viša temperatura u periodu februar-maj uticati na rast i razvoj nešto drugačije endogene mikroflore u polovinu izrađenog nadeva je dodata komercijalna starter kultura koja je sadržala 50% BMK (*Lb. sakei* i *Pd. pentosaceus*), kako bi se obezbedio odgovarajući tok procesa fermentacije sa jedna strane i 50% proteolitičkih stafilokoka (*S. carnosus* i *S. xylosus*), kako bi se obezbedio i ubrazao proces zrenja, sa druge strane.

Za razliku od mikrobiološkog profila BMK nadeva izrađenog na tradicionalan način u 1. proizvodnoj sezoni od ohlađenog mesa (B2 grupa) kojeg čine oko 80% koka i oko 20% bacila, mikrobiološki profil BMK nadeva kobasica izrađenih na isti način u februaru mesecu 3. proizvodne sezone (D1 i E1 grupa) čini nešto manje od 50% koka (*Pediococcus* spp.) i nešto više od 50% bacila (*Lactobacillus* spp.). Nakon 2 dana proizvodnje koke su eliminisane iz kobasica u tradicionalnim uslovima proizvodnje (D1 grupa), a u kobasicama koje su sušene u kontrolisanim uslovima po zadatom modelu za 60 dana (E1 grupa) koke su bile prisutne do 9. dana proizvodnje. Istovremeno u nadevu izrađenom sa starter kulturom oko 80% BMK čine koke, da bi nakon 2. dana proizvodnje njihov udeo u kobasicama sušenim u tradicionalnim uslovima (D2) bio povećan na oko 90%, a zatim udeo koka opada, te 60. dana mikrobiološki profil BMK kobasica ove grupe čine samo bacili. U kobasicama E2 grupe izrađenim od istog nadeva, a sušenim u kontrolisanim uslovima, koke su prisutne do 2. dana proizvodnje u kobasicama, a potom mikrobiološki profil BMK čine samo bacili. Takođe, pored činjenice da su BMK bile dominantna mikroflora u sve četiri posmatrane grupe kobasica, u ovim razmatranjima ne treba zanemariti prisustvo većeg broja stafilokoka u kobasicama izrađenim sa starter kulturom. Naime, inicijalni broj ovih bakterija u kobasicama grupe D2 (5,81 log cfu/g) je ostao praktično nepromenjen do 30. dana proizvodnje, dok je u kobasicama grupe E2 značajno opao već nakon 9 dana (Fazni izveštaj, 2012), verovatno usled intenzivne akumulacije mlečne kiseline i pada vrednosti pH (Tabela 5.4) (Lizaso i sar., 1999; Toldrá, 2002; Casaburi i sar., 2007). Dakle, kobasice D2 grupe je karakterisalo prisustvo mlečno kiselih koka i većeg broja stafilokoka do 30. dana proizvodnje, kada je u tim kobasicama dostignuta najniža vrednost pH (4,93). Nasuprot, kobasice D1 grupe koje su dimljene i sušene pri istim ambijentalnim uslovima, nisu imale mlečno kisele koke već od 2. dana proizvodnje, a minimalna vrednost pH je u njima dostignuta 60. dana (5,03). Takođe, broj autohtonih stafilokoka u ovoj grupi je bio znatno manji ( $\approx 4$  log cfu/g). Istodobno, brzina sušenja, tj. gubitak mase je bio gotovo podjednak u obe grupe kobasica tokom celog perioda sušenja. Nakon 2. dana sušenja kobasice D2 grupe su imale značajno veći ( $P < 0,05$ ) indeks proteolize od kobasica D1 grupe, dok je na kraju procesa sušenja (90. dan) utvrđena obrnuta pojava (Tabela 5.10). Istovremeno, značajno veći ( $P < 0,05$ ) sadržaj  $\text{NH}_2\text{-N}$  je utvrđen u kobasicama D2 grupe (Tabela 5.11). Dodatno, tok razgradnje sarkoplazmatskih i miofibrilarnih proteina ove dve grupe kobasica je bio približno isti. Dakle, šta je moglo usloviti dobro povezivanje nadeva D2 grupe kobasica na kraju procesa sušenja, visoku ocenu izgleda preseka i visoku ukupnu ocenu senzornog kvaliteta? Čini se da odgovor leži u sledećim podacima. Naime, na grafiku 5.10. može se videti da je promena vrednosti odnosa sadržaj vlage u frakcijama kobasica sve četiri grupe izrađene u trećoj sezoni tekla različito tokom 120 dana proizvodnje. Posmatrani odnos je u kobasicama D1 varirao tokom dimljenja,

da bi nakon 15. dana konstantno ali, lagano rastao do vrednosti 1,35 (60. dan). Slična vrednost posmatranog odnosa (1,36) je registrovana i na kraju procesa sušenja (90. dan). U kobasicama D2 grupe je nakon dimljenja došlo do intenzivnijeg porasta odnosa sadržaja vlage u frakcijama, te je vrednost ovog pokazatelja nakon 30 dana dostigla svoj maksimum od 1,48. Kao što je izneto, sadržaj vlage u kobasicama D1 i D2 grupe je bio praktično isti tokom čitavog procesa, te je prethodni rezultat posledica bržeg pada vrednosti pH i drugačije unutrašnje difuzije u kobasicama D2 grupe. U tim kobasicama je i maksimalna vrednost odnosa pepela u frakcijama kobasice (1,36) (Grafik 5.13), a time i sadržaja NaCl u unutrašnjoj frakciji, dostignuta nakon 30 dana, te su nabrojani pokazatelji, verovatno, uticali da se nadev kobasica D2 grupe bolje homogenizuje i poveže. Ova pojava je najverovatnije posledica nastanka proteina manje molekulske mase, te njihovog geliranja, što je onda uticalo da u fazi bržeg sušenja kobasica D1 i D2 grupe (usled porasta spoljašnje temperature), pod sam kraj sušenja (do 20°C), već homogenizovani i povezani nadev, iako je izgubio dosta vode, ostane kompaktan.

Dakle, može se generalno zaključiti da je značajnije i duže prisustvo mlečno kiselih koka i stafilokoka u kobasicama D2 grupe obezbedilo veću i raniju proteolizu i time dovelo do homogenizacije nadeva i boljeg ukupnog senzornog kvaliteta u odnosu na kobasice D1 grupe. Istovremeno, u kobasicama E grupe, zbog visoke temperature u fazi dimljenja i znatno bržeg sušenja je došlo do nestanka mlečno kiselih koka, odnosno značajnog smanjenja broja stafilokoka, a time i njihove proteolitičke aktivnosti, što je pored ostalih faktora uticalo da ukupni senzorni kvalitet ovih kobasica bude veoma nizak. U ovoj sezoni, na osnovu analiziranih parametara, generalno se može zaključiti da je najveći uticaj (Di Cagno i sar., 2008; Vignolo i sar., 2010) na formiranje ekosistema kobasica i međusobnu kompeticiju endogene i dodate mikroflore (starter kultura), imala povišena temperatura pri sušenju i zrenju (za  $\approx 5^{\circ}\text{C}$ ), u odnosu na prvu sezonu. Posledica tog spoljašnjeg faktora je bila promena profila BMK, kao što je predočeno, odnosno bolji rast onih bakterija koje su u stanju da fermentišu složenije ugljene hidrate i dovedu do pada vrednosti pH. Međutim, kako je u svim kobasicama izrađenim u ovoj sezoni nađen nizak sadržaj biogenih amina (Tasić, 2012), zaključuje se da u ovom slučaju nije došlo do rasta mikroorganizama koji imaju sposobnost sinteze dekarboksilaza, te produkcije ovih štetnih jedinjenja.

Iz navedenih razmatranja sledi da buduća autohtona starter kultura, pored dominantnog prisustva bacila (*Lb. sakei*), verovatno treba da sadrži i koke (*Pd. pentosaceus*), ali u veoma pažljivo izbalansiranom odnosu, prilagođenom tačno definisanom i vođenom modelu sušenja. Takođe, neke vrste bakterija iz roda *Staphylococcus* mogu pozitivno uticati na senzorna svojstva kobasica, te bi i njihovo prisustvo u budućoj autohtonoj starter kulturi trebalo detaljno razmotriti i ispitati u narednim istraživanjima.

## 7. ZAKLJUČAK

Na osnovu prikazanih rezultata dobijenih ispitivanjem brzine i intenziteta procesa sušenja i zrenja tradicionalne fermentisane *Petrovačke kobasice* (*Petrovská klobása*), radi razvoja tih procesa u kontrolisanim uslovima, može se zaključiti sledeće:

- da su kobasice A2 grupe, izrađene od toplog mesa brže gubile vodu tokom procesa sušenja od onih izrađenih od hladnog mesa (B2), što je rezultiralo nižim procentom ukupnog senzornog kvaliteta, kako na kraju procesa sušenja (84,7% – A2; 99,7% – B2), tako i na kraju procesa zrenja neupakovanih (84,4% – A2; 99,1% – B2) i upakovanih (V i M) kobasica ( $\approx 85,7\%$  – A2;  $\approx 98,7\%$  – B2),
- da male razlike u termo-higrometrijskim uslovima tradicionalnih prostorija za dimljenje, sušenje i zrenje domaćinstava A i B nisu mogle usloviti značajnije razlike u brzini pada vrednosti pH i sušenja, te da je ova pojava diminatno bila uslovljena različitim mikrobiološkim profilom BMK, u različito (toplo/hladno meso) pripremljenom nadevu,
- da je hladno meso (24h post mortem) pogodnije za izradu *Petrovačke kobasice*, u odnosu na toplo meso,
- da je model sušenja i zrenja kobasica B2 grupe u tradicionalnim uslovima optimalan jer rezultira kobasicama vrhunskog senzornog kvaliteta, kako na kraju procesa sušenja (99,7%), tako i zrenja, bez obzira da li su u pitanju neupakovane ili kobasice upakovane u vakuumu i/ili modifikovanoj atmosferi ( $>98,5\%$ ),
- da ovaj model proizvodnje podrazumeva nisku ambijentalnu temperaturu ( $<10^{\circ}\text{C}$ ) tokom čitavog procesa izrade, te nizak intenzitet fermentacije, odnosno mali pad vrednosti pH do  $\approx 5,3$  (ok 60. dana), a zatim porast do  $\geq 5,4$ , koji uz odgovarajuće termo-higrometrijske uslove, utiče da sušenje kobasica bude sporo, odnosno da 90. dana rezultira gubitkom mase u intervalu od 35 do 40% i sadržajem vlage manjim od 35% (optimalno  $\approx 32\%$ ),
- da ovaj model proizvodnje (zrenja) podrazumeva nisku aktivnost katepsina D, produženu inicijalnu fazu proteolize, te intenzivnu hidrolizu miozina, ali ne i aktina,

- da je formiranje optimalne teksture kobasica B2 grupe na kraju procesa sušenja posledica većeg sadržaja NaCl u centralnom delu kobasice, dobrog bubrenja proteina i povezivanja nadeva (sila probijanja – 11,8 N; senzorna ocena teksture – 5,00),
- da je u kobasicama B4 grupe nakon 45 dana sušenja, usled brze spoljašnje difuzije vlage, došlo do intenzivnog isušivanja spoljašnje frakcije i nastanka perifernog tvrdog ruba (odnos sadržaja vlage u frakcijama 1,71; odnos sile probijanja u frakcijama 0,5), što je negativno uticalo na njihov ukupni senzorni kvalitet,
- da je vrednost odnosa sadržaja vode između frakcija uvek bila veća od 1, odnosno da je sadržaj vode tokom čitavog perioda sušenja bio veći u unutrašnjim frakcijama kobasica svih eksperimentalnih grupa,
- da su kobasice C2 grupe (ručno mešan nadev) značajno sporije gubile vodu ( $P < 0,05$ ) od kobasica C3 grupe (mašinski mešan nadev), iako je proces sušenja tekao pri istim termo-higrometrijskim uslovima (gubitak mase 33,2% – C2; 35,7 – C3; sadržaj vlage 33,9% – C2; 32,3% - C3),
- da su kobasice C2 grupe, i pored većeg sadržaja vlage na kraju procesa sušenja, imale veću čvrstoću od kobasica C3 grupe (6,23 N i 5,79 N, redom), te da je ručni način mešanja uslovio intenzivnije i brže rastvaranje proteina (bubrenje), a posledično i nešto bolje povezivanje partikula mišićnog i masnog tkiva,
- da su utvrđene razlike toka procesa sušenja i povezivanja nadeva kobasica C2 i C3 grupe, međusobno i u odnosu na optimalan model, značajno uticale na senzorne karakteristike, te su kobasice obe grupe nakon 60 dana sušenja u kontrolisanim uslovima imale relativno nizak procenat ukupnog senzornog kvaliteta (82,4% - C2; 81,0 – C3), koji je nakon dodatnih 60 dana zrenja (skladištenja) u vakuum pakovanju značajno porastao (89,7% – C2; 88,9% – C3),
- da tradicionalni, ručni način mešanja nadeva pri izradi *Petrovačke kobasice* može biti na odgovarajući način supstituisan upotrebom savremenih uređaja za mešanje, što je naročito značajno sa aspekta bezbednosti proizvoda i efikasnosti proizvodnje u kontrolisanim uslovima registrovanog objekta za preradu mesa,
- da je u kontrolisanim uslovima, uz znatno kraći period sušenja (60 dana) u odnosu na tradicionalnu praksu (90 dana), moguće proizvesti *Petrovačku kobasicu* visokog senzornog kvaliteta, na kraju procesa zrenja, ne kraćem od 120 dana,
- da nelinearni empirijski matematički modeli Aproksimacija difuzije, Page i Logaritamski vrlo dobro aproksimiraju eksperimentalne podatke dobijene tokom



ispitivanja procesa sušenja *Petrovačke kobasice*, kako u tradicionalnim, tako i u kontrolisanim uslovima, te da se navedeni modeli sa velikom sigurnošću mogu koristiti za predviđanje sadržaja vlage u kobasicama u bilo kom momentu procesa sušenja,

- da inicijalni sadržaj masti u nadevu značajno utiče na brzinu i tok procesa sušenja kobasica, a posledično i na ukupan senzorni kvalitet finalnih proizvoda,
- da je pri izradi nadeva neophodno u potpunosti ispoštovati preporučene kriterijume Dobre Proizvođačke Prakse (sadržaj masti  $\leq 20\%$ ), radi ostvarenja kriterijuma kvaliteta zadatih u Tehnološkom elaboratu,
- da je u svim grupama kobasica izrađenih u trećoj proizvodnoj sezoni (D1, D2, E1, E2) registrovan značajan pad pH, do vrednosti 5,03, 4,93, 4,87 i 4,75, redom,
- da su intenzitet i brzina pada vrednosti pH u kobasicama izrađenim u trećoj proizvodnoj sezoni varirali u zavisnosti od uslova sušenja (tradicionalni/kontrolisani) i prisustva/odsustva starter kulture,
- da su sve kobasice izrađene u trećoj proizvodnoj sezoni tokom procesa sušenja izgubile više vlage nego što je optimalno, a da je ta pojava posebno bila izražena za kobasice sušene u kontrolisanim uslovima,
- da je visoka temperatura ( $\approx 15^\circ\text{C}$ ), registrovana tokom prvih 10 dana procesa proizvodnje kobasica E1 i E2 grupe, izazvala veoma brz proces fermentacije i značajan pad pH već nakon 6. dana, do vrednosti 4,99 i 4,80, redom,
- da je ovako niska vrednost pH u kobasicama ove dve grupe, uz odgovarajuće termohigrometrijske uslove u industrijskoj komori, rezultirala intenzivnim procesom sušenja, te su kobasice obe grupe nakon 60 dana izgubile  $\approx 45\%$  svoje početne mase,
- da je tokom procesa zrenja u kobasicama svih eksperimentalnih grupa došlo do intenzivne hidrolize sarkoplazmatske proteinske frakcije od  $\approx 43$  kDa, te nastanka i/ili akumulacije polipeptida od  $\approx 40$  kDa,
- da je tokom procesa zrenja u kobasicama svih eksperimentalnih grupa došlo do nastanka i akumulacije više proteinskih frakcija u rasponu molekulskih masa  $\approx 14 - 35$  kDa,
- da je intenzivna razgradnja miozina registrovana u svim izrađenim grupama kobasica,
- da je tokom procesa zrenja u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica svih eksperimentalnih grupa, usled razgradnje miozina, došlo do akumulacije polipeptida molekulskih masa od  $\approx 145$  i 160 kDa,

- da razgradnja aktina nije registrovana u kobasicama A2, B2 i B4 grupe, koje je tokom proizvodnje karakterisao mali pad vrednosti pH (0,2 – 0,3 jedinice),
- da je razgradnja aktina registrovana u kobasicama C2, C3, D1, D2, E1 i E2 grupe, koje je tokom proizvodnje karakterisao veliki pad vrednosti pH (0,5 – 0,6 jedinica),
- da je razgradnja aktina posebno bila izražena u kobasicama izrađenim uz dodatak starter kulture, gde je sadržaj ovog proteina tokom zrenja smanjen za 60 - 70% u odnosu na inicijalnu vrednost,
- da je usled veoma niske vrednosti pH i visokog stepena sušenja, te intenzivne proteolize, ukupni senzorni kvalitet kobasica E1 i E2 grupe bio veoma nizak kako na kraju sušenja (66,7 – E1; 82,1 – E2), tako i na kraju zrenja u vakuum pakovanju (77,8 – E1; 76,0 – E2),
- da su kobasice D2 grupe, izrađene uz dodatak starter kulture, i pored intenzivnog procesa sušenja nakon 90 dana imale više od 90% ukupnog senzornog kvaliteta (90,5%), što nije bio slučaj sa kobasicama D1 grupe, izrađenim bez dodatka starter kulture, te da je dodata bakterijska kultura pozitivno uticala na kvalitet kobasica, a pre svega na povezivanje nadeva i razvoj poželjne boje,
- da dodatak bakterijske starter kulture može pozitivno uticati na ukupni senzorni kvalitet *Petrovačke kobasice* izrađene van uobičajene sezone izrade,
- da je u ovim istraživanjima upotrebljena komercijalna starter kultura sa velikim potencijalom acidifikacije, te da bi u budućim istraživanjima, a potencijalno i u praksi proizvodnje *Petrovačke kobasice* van uobičajene sezone izrade, radi ostvarenja boljih rezultata, verovatno trebalo koristiti autohtonu starter kulturu sa manjim udelom *Lb. sakei*, kao najznačajnijih acidifikatora, tj. onu koja dominantno sadrži vrstu *Lb. sakei*, izolovanu iz kobasica B2 grupe.
- da su dodate vrste bakterija iz roda *Staphylococcus* pozitivno uticale na neka tehnološka i senzorna svojstva kobasica, te bi i njihovo prisustvo u budućoj autohtonoj starter kulturi trebalo detaljno razmotriti i ispitati.

## 8. LITERATURA

- Akpinar, E. K., Bicer, Y., Yildiz, C. (2003). Thin layer drying of red pepper. *Journal of Food Engineering*, 59, 99-104.
- Allen, R.E., Goll, D.E. (2003). Cellular and developmental biology of skeletal muscle as related to muscle growth. In: *Biology of Growth of Domestic Animals*, edited by C.G. Scanes. Ames, Iowa: Wiley - Blackwell.
- Andrés, A., Barat, J.M., Grau, R., Fito, P. (2007). Principles of Drying and Smoking. In: *Handbook of Fermented Meat and Poultry*, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J.G. Sebranek, E.T.F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 37-48). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- 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 Science*, 67, 237-244.
- Ansorena, D., Montel, M.C., Rokka, M., Talon, R., Eerola, S., Rizzo, A., Raemaekers, M., Demeyer, D. (2002). Analysis of biogenic amines in northern and southern European sausages and role of flora in amine production. *Meat Science*, 61, 141-147.
- Aquilanti, L., Santarelli, S., Silvestri, G., Osimani, A., Petruzzelli, A., Clementi, F. (2007). The microbial ecology of a typical Italian salami during its natural fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1-2), 136-145.
- Arnau, J., Serra, X., Comaposada, J., Gou, P., Garriga, M. (2007). Technologies to shorten the drying period of dry-cured meat products. *Meat Science*, 77, 81-89.
- Aro Aro, J. M., Nyam-Osor, P., Tsuji, K., Shimada, K.-i., Fukushima, M., Sekikawa, M. (2010). The effect of starter cultures on proteolytic changes and amino acid content in fermented sausages. *Food Chemistry*, 119(1), 279-285.
- Babić, Lj., Babić, M. (2000). Sušenje i skladištenje, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Baldini, P., Cantoni, E., Colla, F., Diaferia, C., Gabba, L., Spotti, E., Marchelli, R., Dossena, A., Virgili, E., Sforza, S., Tenca, P., Mangia, A., Jordano, R., Lopez, M. C., Medina, L., Coudurier, S., Oddou, S., Solignat, G. (2000). Dry sausages ripening: influence of thermohygro-metric conditions on microbiological, chemical and physico-chemical characteristics. *Food Research International*, 33, 161-170.

- Bañón, S., Bedia, M., Almela, E., Martínez, P.J. (2010). Improving the quality of dry-cured sausages using pork from rustic breed. *Agricultural and food science*, 19, 240-251.
- Barbut, S. (2007). Texture. In: *Handbook of fermented meat and poultry*, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J.G. Sebranek, E.T.F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 217-226). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Beckmann, J.S., Spencer, M. (2008). Calpain 3, the “gatekeeper” of proper sarcomere assembly, turnover and maintenance. *Neuromuscular Disorders*, 18, 913-921.
- Bem, Z., Adamič, J. (1991). *Mikrobiologija mesa i proizvoda od mesa*. Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Benito, M.J., Rodríguez, M., Córdoba, M.G., Andrade, M.J. i Córdoba, J.J. (2005). Effect of the fungal protease EPg222 on proteolysis and texture in the dry fermented sausage “salchichón”. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 273-280.
- Beriain, M. J., Lizaso, G., Chasco, J. (2000). Free amino acids and proteolysis involved in ‘salchichon’ processing. *Food Control*, 11(1), 41-47.
- Bianchi, E., Bergoni, S., Cantoni, A. (1974). Ripening of "Felino" type Italian salami in small and big industries in Emilia. *Meat Industry Review*, 1, 7-12.
- Bonomo, M.G., Ricciardi, A., Zotta, T., Sico, M.A., Salzano, G. (2009). Technological and safety characterization of coagulase-negative staphylococci from traditionally fermented sausages of Basilicata region (Southern Italy). *Meat Science*, 83(1), 15-23.
- Bover-Cid, S., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, C.M. (2001). Changes in biogenic amine and polyamine contents in slightly fermented sausages manufactured with and without sugar. *Meat Science*, 57(2), 215-221.
- Bowker, B.C., Eastridge, J.S., Paroczay, E.W., Callahan, J.A. and Solomon, M.B. (2010). Aging/Tenderization Mechanisms. In: *Handbook of Meat Processing*, edited by F. Toldrá (pp. 87-104). Ames, Iowa: Blackwell Publishing.
- Candogan, K., Wardlaw, F.B., Acton, J.C. (2009). Effect of starter culture on proteolytic changes during processing of fermented beef sausages. *Food Chemistry*, 116(3), 731-737.
- Casaburi, A., Aristoy, M. C., Cavella, S., Di Monaco, R., Ercolini, D., Toldrá, F., Villani, F. (2007). Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures. *Meat Science*, 76 (2), 295-307.
- Casaburi, A., Blaiotta, G., Mauriello, G., Pepe, O., Villani, F. (2005). Technological activities of *Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus simulans* strains isolated from fermented sausages. *Meat Science*, 71, 643-650.

- Casquete, R., Benito, M. J., Martín, A., Ruiz-Moyano, S., Hernández, A., Còrdoba, M. G. (2011). Effect of autochthonous starter cultures in the production of “salchichón”, a traditional Iberian dry-fermented sausage, with different ripening processes. *LWT - Food Science and Technology*, 44(7), 1562-1571.
- Cassens, R.G. (1994). *Meat Preservation - Preventing Losses And Assuring Safety*, Food & Nutrition Press, Inc., Tnimbull, Connecticut USA.
- Cato, M.P. (1979). *De agricultura (On Agriculture)*. Translated by W.D. Hooper. Harvard University Press, 155–157.
- Çengel, Y.A. (1998). *Heat Transfer – A Practical Approach*. Hightstown, NJ, USA: McGraw-Hill, Inc.
- Clark, K.A., McElhinny, A.S., Beckerle, M.C. i Gregorio, C.C. (2002). Striated muscle cytoarchitecture: An intricate web of form and function. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 18, 637-706.
- Comaposada, J. (1999). *Sorption Isotherms and Water Diffusivity in Muscles of Pork Ham at Different NaCl Contents*. Doctoral thesis, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, Monells (Girona).
- Comi, G., Urso, R., Iacumin, L., Rantsiou, K., Cattaneo, P., Cantoni, C., Cocolin, L. (2005). Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Science*, 69, 381-392.
- Costa-Corredor, A., Pakowski, Z., Lenczewski, T., Gou, P. (2010). Simulation of simultaneous water and salt diffusion in dry fermented sausages by the Stefane Maxwell equation. *Journal of Food Engineering*, 97, 311-318.
- Council Regulation (EC) No 509/2006, on agricultural products and foodstuffs as traditional specialities guaranteed.
- Council Regulation (EC) No 510/2006, on the protection of geographical indications and designations of origin for agricultural products and foodstuffs.
- Council Regulation (EEC) No 2081/92, on the protection of geographical indications and designations of origin for agricultural products and foodstuffs.
- Dalmiş, Ü., Soyer, A. (2008). Effect of processing methods and starter culture (*Staphylococcus xylosus* and *Pediococcus pentosaceus*) on proteolytic changes in Turkish sausages (sucuk) during ripening and storage. *Meat Science*, 80(2), 345-354.
- Danilović, B., (2012). *Promena populacije bakterija mlečne kiseline u toku zrenja Petrovačke kobasice (Petrovská klobása)*. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet u Leskovcu, Univerzitet u Nišu.

- Danilović, B., Joković, N., Petrović, Lj., Veljović, K., Tolinački, M. Savić, D. (2011). The characterisation of lactic acid bacteria during the fermentation of an artisan Serbian sausage (*Petrovska Klobasa*). *Meat Science*, 88, 668-674.
- De Masi, T.W., Wardlaw, F. B., Dick, R. L., Acton, J. C. (1990). Nonprotein nitrogen (NPN) and free amino acid content of dry fermented and nonfermented sausages. *Meat Science*, 27, 1-12.
- Demeyer, D. (2004). Meat fermentation: Principles and applications. In: *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*, edited by H. Hui, L. Meunier - Goddik, A. Hansen, J. Josephsen, W.-K. Nip, P. Stanfield, F. Toldrá. New York: Marcel Dekker.
- Di Cagno, R., Cháves López, C., Tofalo, R., Gallo, G., De Angelis, M., Paparella, A., Hammes, W., Gobbetti, M. (2008). Comparison of the compositional, microbiological, biochemical and volatile profile characteristics of three Italian PDO fermented sausages. *Meat Science*, 79, 224-235.
- Di Luccia, A., Picariello, G., Cacace, G., Scaloni, A., Faccia, M., Liuzzi, V., Alviti, G., Spagna Musso, S. (2005). Proteomic analysis of water soluble and myofibrillar protein changes occurring in dry-cured hams. *Meat Science*, 69, 479-491.
- Díaz, O., Fernández, M., De Fernando, G.D.G., De la Hoz, L., Ordóñez, J.A. (1997). Proteolysis in dry fermented sausages: the effect of selected exogenous proteases. *Meat Science*, 46(1), 115-128.
- Dong, U.A., Byungrok, M. (2007). Packaging and storage. In: *Handbook of fermented meat and poultry*, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J.G. Sebranek, E.T.F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 289-300). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Doymaz, I., Gorel, O., Akgun, N.A. (2004). Drying Characteristics of the Solid By-product of Olive Oil Extraction. *Biosystems Engineering*, 88, 213-219.
- Doymaz, I., Pala, M. (2002). Hot-air drying characteristics of red pepper. *Journal of Food Engineering*, 55, 331-335.
- Dutt, P., Spriggs, C.N., Davies, P.L., Jia, Z., Elce, J.S. (2002). Origins of the difference in Ca<sup>2+</sup> requirement for activation of  $\mu$ - and m-calpain. *Biochemical Journal*, 367, 263-269.
- Džamić, M. (1989). *Praktikum iz biohemije*, Naučna knjiga, Beograd.
- Eerola, H.S., Roig Sagues, A.X., Hirvi, T.K. (1998). Biogenic amines in finnish dry sausages. *Journal of Food Safety*, 18, 127-138.
- Elias, M., Carrascosa, A.V. (2010). Characterisation of the *Paio do Alentejo*, a traditional Portuguese Iberian sausage, in respect to its safety. *Food Control*, 21, 97-102.

- European Commission (2003). Why Do Geographical Indications Matter to Us? Website: [http://trade.ec.europa.eu/doclib/docs/2003/october/tradoc\\_113900.pdf](http://trade.ec.europa.eu/doclib/docs/2003/october/tradoc_113900.pdf)
- European Commission (2007b). European Research on Traditional Foods. Website: <ftp://ftp.cordis.europa.eu/pub/fp7/kbbe/docs/traditional-foods.pdf>
- European Commission (2007a). European Policy for Quality Agricultural Products. Website: [http://ec.europa.eu/agriculture/publi/fact/quality/2007\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/agriculture/publi/fact/quality/2007_en.pdf)
- European Commission (2010). Newsletter: PDO and PGI agricultural products - A 14.2 billion euro turnover for over 800 products. Website: [http://ec.europa.eu/agriculture/quality/schemes/newsletter-2010\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/agriculture/quality/schemes/newsletter-2010_en.pdf)
- Fadda, S., Lopez, C., Vignolo, G. (2010). Role of lactic acid bacteria during meat conditioning and fermentation: peptides generated as sensorial and hygienic biomarkers. *Meat Science*, 86, 66-79.
- Fazni izveštaj za prvu godinu na Projektu: Razvoj tradicionalnih tehnologija proizvodnje fermentisanih suvih kobasica sa oznakom geografskog porekla u cilju dobijanja bezbednih proizvoda standardnog kvaliteta (TR 31032) (2012). Rukovodilac projekta: prof. dr Ljiljana Petrović.
- Fellows, P.J. (2000). *Food Processing Technology - Principles and Practice*, 2<sup>nd</sup> edition, Woodhead publishing Ltd, Abington, Cambridge.
- Ferreira, V., Barbosa, J., Silva, J., Vendeiro, S., Mota, A., Silva, F., Monteiro, M.J., Hogga, T., Gibbs, P., Teixeira, P. (2007). Chemical and microbiological characterisation of “*Salpicaõ de Vinhais*” and “*Chouriça de Vinhais*”: Traditional dry sausages produced in the north of Portugal. *Food Microbiology*, 24, 618-623.
- Flores, M., Toldrá, F. (2011). Microbial enzymatic activities for improved fermented meats. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 81-90.
- Franco, I., Prieto, B., Cruz, J.M., Lopez, M., Carballo, J. (2002). Study of the biochemical changes during processing of Androlla, a Spanish drycured pork sausage. *Food Chemistry*, 78, 339-345.
- Fretheim, K., Egelandsdal, B., Harbitz, O., Samejima, K. (1985). Slow lowering of pH induces gel formation of myosin. *Food Chemistry*, 18, 169-178.
- Gandemer, G. (2002). Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science* 62, 309-321.
- García de Fernando, G.D., Fox, P.F. (1991). Study of proteolysis during the processing of a dry fermented pork sausage. *Meat Science*, 30(4), 367-383.
- García-Garrido, J.A., Quiles, R., Tapiador, J., Luque, M.D. (2000). Activity of cathepsin B, D, H and L in Spanish dry-cured ham of normal and defective texture. *Meat Science*, 56, 1-6.

- Geesink, G.H. and Veiseth, E. (2009). Muscle Enzymes: Proteinases. In: Handbook of Muscle Foods Analysis, edited by Leo M.L. Nollet, F. Toldrá (pp. 91-110). Boca Raton, Florida: CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Geesink, G.H., Taylor, R.G., Koochmaraie, M. (2005). Calpain 3/p94 is not involved in postmortem proteolysis. *Journal of Animal Science*, 83, 1646-1652.
- Gimeno, O., Ansorena, D., Astiasaran, I., Bello, J. (2000). Characterization of chorizo de Pamplona: instrumental measurements of colour and texture. *Food Chemistry*, 69, 195-200.
- Goetz, H., Kuschel, M., Wulff, T., Sauber, C., Miller, C., Fisher, S. (2004). Comparison of selected analytical techniques for protein sizing, quantitation and molecular weight determination. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 60(3), 281-293.
- Gögüs, F., Maskan, M. (2001). Drying of olive pomace by a combined microwave-fan assisted convection oven. *Nahrung*, 45, 129-132.
- Goll, D.E., Thompson, V.F., Li, H., Wei, W., Cong, J. (2003). The calpain system. *Physiological Reviews* 83, 731-801.
- Gupta, S., Cox, S., Abu-Ghannam, N. (2011). Effect of different drying temperatures on the moisture and phytochemical constituents of edible Irish brown seaweed. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1266-1272.
- Haldane, J. (1901). The red color of salted meat. *Journal of Hygiene*, I, 115-122.
- Hamm, R. (1972). *Kolloidchemie des fleisches*. Paul Parey, Berlin.
- Hamm, R. (1974). Uticaj kuhinjske soli i polifosfata na belančevine mišića i na sposobnost vezivanja vode mesa. U: Salamurenje mesa, urednik S. Rahelić (str. 121-132). Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Honikel, K.O. (1999). Biohemijske i fizičko-hemijske karakteristike kvaliteta mesa. *Tehnologija mesa*, 40(3-5), 105-123.
- Honikel, K.O. (2007). Principles of Curing. In: Handbook of Fermented Meat and Poultry, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J.G. Sebranek, E.T.F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 16-30). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Hsieh, J.F., Chen, S.T. (2007). Comparative studies on the analysis of glycoproteins and lipopolysaccharides by the gel-based microchip and SDS-PAGE. *Biomicrofluidics*, 1, No. 014102.
- Huff-Lonergan, E. (2010). Chemistry and Biochemistry of Meat. In: Handbook of meat processing, edited by F. Toldrá (pp. 5-24). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Hughes, M.C., Kerry, J.P., Arendt, E.K., Kenneally, P.M., McSweeney, P.L.H., O'Neill, E.E. (2002). Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausages. *Meat Science*, 62(2), 205-216.



- Hutkins, R.W. (2006). *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Ikonić, P., Petrović, Lj., Tasić, T., Džinić, N., Jokanović, M., Tomović, V. (2010). Physicochemical, biochemical and sensory properties for the characterization of *Petrovská klobása* (traditional fermented sausage). *Acta Periodica Technologica*, 41, 19-31.
- Incze, K. (1998). Dry fermented sausages. *Meat Science*, 49, 169-177
- Jain, D., Pathare, P.B. (2004). Selection and evaluation of thin layer drying models for infrared radiative and convective drying of onion slices. *Biosystems Engineering*, 89, 289-296.
- Jain, D., Pathare, P.B. (2007). Study the drying kinetics of open sun drying of fish. *Journal of Food Engineering*, 78, 1315-1319.
- Jordana, J. (2000). Traditional foods: challenges facing the European food industry. *Food Research International*, 33(3-4), 147-152.
- Kaban, G., Kaya, M. (2009). Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus xylosum* on the quality characteristics of dry fermented sausage "Sucuk". *Journal of Food Science*, 74, 58-63.
- Karan, D., Vesković-Moračanin, S., Parunović, N., Rašeta, M., Babić, J., Đorđević, M., Tadić, R. (2009) Senzorske karakteristike tradicionalno fermentisanih kobasica. *Tehnologija mesa*, 50, 335-341.
- Kisskalt, K. (1899). Beiträge zur Kenntnis der Ursachen des Rotwerdens des Fleisches beim Kochen nebst einigen Versuchen über die Wirkung der schwefeligen Säure auf der Fleischfarbe. *Archiv für Hygiene und Bakteriologie*, 35, 11-18.
- Krkić, N., Šojić, B., Lazić, V., Petrović, Lj., Mandić, A., Sedej, I., Tomović V. (2013). Lipid oxidative changes in chitosan-oregano coated traditional dry fermented sausage *Petrovská klobása*. *Meat Science*, 93(3), 767-770.
- Krvavica, M., Lukić, A., Vrdoljak, M., Đugum, J., Ćurić, D. (2007). Proteoliza mišićnog tkiva tijekom zrenja pršuta. *Meso*, IX(4), 221-229.
- Larrea, V., Hernando, I., Quiles, A., Lluch, M. A., Pérez-Munuera, I. (2006). Changes in proteins during Teruel dry-cured ham processing. *Meat Science*, 74, 586-593.
- Larrea, V., Perez-Munuera, I., Hernando, I., Quiles, A., Llorca, E., Lluch, M.A. (2007). Microstructural changes in Teruel dry-cured ham during processing. *Meat Science*, 76(3), 574-582.
- Lawrie, R.A., Ledward, D.A. (2006). *Lawrie's meat science*, seventh edition. Abington, Cambridge: Woodhead Publishing Limited.

- Lebert I., Leroy S., Giammarinaro P., Lebert A., Chacornac J.P., Bover-Cid S., Vidal-Carou M.C., Talon R., (2007a). Diversity of microorganisms in the environment and dry fermented sausages of small traditional French processing units. *Meat Science*, 76, 112-122.
- Lebert I., Leroy S., Talon R. (2007b). Microorganisms in Traditional Fermented Meats. In: *Handbook of fermented meat and poultry*, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J.G. Sebranek, E.T.F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 113-124). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Lee, J.H., Kim, H.J. (2009). Vacuum drying kinetics of Asian white radish (*Raphanus sativus L.*) slices. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 180-186.
- Lehman, W., Rosol, M., Tobacman, L.S., Craig, R. (2001). Troponin organization on relaxed and activated thin filaments revealed by electron microscopy and three-dimensional reconstruction. *Journal of Molecular Biology*, 307, 739-744.
- Lehmann, K.B. (1899). Über das Haemorrhodin. Ein neues weit verbreitetes Blutfarbstoffderivat. *Über Physical Medicine. Gesellschaft Würzburg*, 4, 57-61.
- Leistner, L. (1986). Allgemeines über Rohschinken. *Fleischwirtsch*, 66, 496-510.
- Leistner, L. (1994). *Food Design by hurdle technology and HACCP*. Adalbert Raps Foundation, Kulmbach, Germany.
- Liaros, N.G., Katsanidis, E., Bloukas, J.G. (2009). Effect of the ripening time under vacuum and packaging film permeability on processing and quality characteristics of low-fat fermented sausages. *Meat Science*, 83, 589-598.
- Lizaso, G., Chasco, J., Beriain, M.J. (1999). Microbiological and biochemical changes during ripening of Salchichón, a Spanish dry cured sausage. *Food Microbiology*, 16, 219-228.
- Lorenzo, J.M., Michinel, M., López, M., Carballo, J. (2000). Biochemical characteristics of two Spanish traditional dry-cured sausage varieties: *Androlla* and *Botillo*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13, 809-817.
- Lorenzo, J.M., Temperán, S., Bermúdez, R., Cobas, N., Purriños, L. (2012). Changes in physico-chemical, microbiological, textural and sensory attributes during ripening of dry-cured foal salchichón. *Meat Science*, 90 (1), 194-198.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folinephenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Lücke, F.-K., Vogeley, I. (2012). Traditional 'air-dried' fermented sausages from Central Germany. *Food Microbiology*, 29, 242-246.

- Martín, A., Córdoba, J.J., Rodríguez, M.M., Núñez, F., Asensio, M.A. (2001). Evaluation of microbial proteolysis in meat products by capillary electrophoresis. *Journal of Applied Microbiology*, 90(2), 163-171.
- Martín-Sánchez, A.M., Chaves-López, C., Sendra, E., Sayas, E., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J.Á. (2011). Lipolysis, proteolysis and sensory characteristics of a Spanish fermented dry-cured meat product (salchichón) with oregano essential oil used as surface mold inhibitor. *Meat Science*, 89(1), 35-44.
- Melody, J.L., Lonergan, S.M., Rowe, L.J., Huiatt, T.W., Mayes, M.S., Huff-Lonergan, E. (2004). Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. *Journal of Animal Science*, 82, 1195-1205.
- Møller, J.K.S., Skibsted, L.H. (2007). Color. In: *Handbook of fermented meat and poultry*, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J.G. Sebranek, E.T.F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 203-216). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Molly, K., Demeyer, D., Johansson, G., Raemaekers, M., Ghistelinck, M., Geenen, I. (1997). The importance of meat enzymes in ripening and flavour generation in dry fermented sausages. First results of a European project. *Food Chemistry*, 59 (4), 539-545.
- Monin, G., Marinova, P., Talmant, A., Martin, J.F., Cornet, M., Lanore, D., Grasso, F. (1997). Chemical and structural changes in dry-cured hams (Bayonne hams) during processing and effects of the dehairing technique. *Meat Science*, 47, 29-47.
- Mora, L., Sentandreu, M.A., Koistinen, K.M., Fraser, P.D., Toldrá, F., Bramley, P.M. (2009). Naturally generated small peptides derived from myofibrillar proteins in serrano dry-cured ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 3228-3234.
- Moretti, V.M., Madonia, G., Diaferia, C., Mentasti, T., Paleari, M. A., Panseri, S., Pirone, G., Gandini, G. (2004). Chemical and microbiological parameters and sensory attributes of a typical Sicilian salami ripened in different conditions. *Meat Science*, 66(4), 845-854.
- Nilsen, A., Rødbotten, M. (2007). Sensory attributes: General considerations. In: *Handbook of fermented meat and poultry*, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J.G. Sebranek, E.T.F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 198-202). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Olesen, P.T., Meyer, A.S., Stahnke, L.H. (2004). Generation of flavour compounds in fermented sausages—The influence of curing ingredients, *Staphylococcus* starter culture and ripening time. *Meat Science*, 66, 675-687.
- Ono, Y., Kakinuma, K., Torii, F., Irie, A., Nakagawa, K., Labeit, S., Abe, K., Suzuki, K., Sorimachi, H. (2004). Possible regulation of the conventional calpain system by

- skeletal muscle - specific calpain, p94/calpain 3 . Journal of Biological Chemistry, 279, 2761-2771.
- Papadima, S.N., Bloukas, J.G. (1999). Effect of fat level and storage conditions on quality characteristics of traditional Greek sausages. Meat Science, 51, 103-113.
  - Paunović, R. (2010). Matematičko modelovanje u prehrambenom inženjerstvu. Tehnološki fakultet, Novi Sad.
  - Petäjä-Kanninen, E., Puolanne, E. (2007). Principles of Meat Fermentation. In: Handbook of Fermented Meat and Poultry, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J.G. Sebranek, E.T.F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 31-36). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
  - Petrović, Lj. (2012). Neautorizovana predavanja (PP prezentacija): Tehnologija proizvodnje i prerade mesa. Tehnološki fakultet, Novi Sad.
  - Petrović, Lj., Džinić, N., Ikonić, P., Tasić, T., Tomović, V. (2011). Quality and safety standardization of traditional fermented sausages. Tehnologija mesa, 2, 234-244.
  - Petrović, Lj., Džinić, N., Tomović, V., Ikonić, P., Tasić, T. (2007). Tehnološki Elaborat o načinu proizvodnje i specifičnim karakteristikama proizvoda *Petrovska klobasa* (*Petrovačka kobasica*). Rešenje o registraciji oznake geografskog porekla *Petrovska klobasa* (*Petrovačka kobasica*) kao IMENA POREKLA za suvomesnati proizvod-fermentisanu kobasicu, broj: 9652/06 Γ-03/06, 21. 05. 2007. godine, Republika Srbija, Zavod za intelektualnu svojinu.
  - Polenske, E. (1891). Über den Verlust, welchen Rindfleisch and Nährwert durch das Pökeln erleidet sowie über die Veränderungen salpeterhaltiger Pökellaken. Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt, 7, 471-474.
  - Popov-Raljić, J. (1999). Tehnologija i kvalitet gotove hrane. Tehnološki fakultet, Novi Sad.
  - Puolanne, E., Halonen, M. (2010). Theoretical aspects of water-holding in meat. Meat Science, 86, 151-165.
  - Radovanović, R., Popov-Raljić, J. (2001). Senzorna analiza prehrambenih proizvoda. Poljoprivredni fakultet, Beograd, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
  - Rahelić, S. (1987). Kvalitet mesa plemenite svinje. Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
  - Rason, J., Martin, J.-F., Dufour, E., Lebecque, A. (2007). Diversity of the sensory characteristics of traditional dry sausages from the centre of France: relation with regional manufacturing practice. Food Quality and Preference, 18(3), 517-530.
  - Rawlings, R.D., Morton, F.R., Barrett, A.J. (2006). MEROPS: the peptidase database. Nucleic Acids Res. 34, D270-D272.

- Rede, R., Petrović, Lj. (1997). Tehnologija mesa i nauka o mesu. Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Robson, R.M., Huiatt, T.W., Bellin, R.M. (2004). Muscle intermediate filament proteins. *Methods of Cell Biology*, 78, 519-553.
- Roncalés, P. (2007). Additives. In: *Handbook of Fermented Meat and Poultry*, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J.G. Sebranek, E.T.F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 77-86). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Root, D.D., Wang, K. (2001). High-affinity actin-binding nebulin fragments influence the actos1 complex. *Biochemistry*, 40, 1171-1186.
- Roseiro, L.C., Gomes, A., Gonçalves, H., Sol, M., Cercas, R., Santos, C. (2010). Effect of processing on proteolysis and biogenic amines formation in a Portuguese traditional dry-fermented ripened sausage “*Chouriço Grosso de Estremoz e Borba PGI*”. *Meat Science*, 84(1), 172-179.
- Roseiro, L.C., Santos, C., Sol, M., Borges, M.J., Anjos, M., Gonçalves, H., Carvalho, A. S. (2008). Proteolysis in *Painho de Portalegre* dry fermented sausage in relation to ripening time and salt content. *Meat Science*, 79 (4), 784-794.
- Rubio B., Martínez B., García-Cachán M.D., Rovina J., Jaime I. (2008). Effect of the packaging method and the storage time on lipid oxidation and colour stability on dry fermented sausage salchichón manufactured with raw material with a high level of mono and polyunsaturated fatty acids. *Meat Science*, 80, 1182-1187.
- Ruiz, J. (2007). Ingredients. In: *Handbook of fermented meat and poultry*, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J.G. Sebranek, E.T.F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 59-76). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Salgado, A., García Fontán, M.C., Franco, I., López, M., Carballo, J. (2006). Effect of the type of manufacture (homemade or industrial) on the biochemical characteristics of *Chorizo de cebolla* (a Spanish traditional sausage). *Food Control*, 17, 213-221.
- Sanz, Y., Fadda, S., Vignolo, G., Aristoy, M.-C., Oliver, O., Toldrá, F. (1999). Hydrolytic action of *Lactobacillus casei* CRL705 on pork muscle sarcoplasmic and myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3441-3448.
- Sanz, Y., Toldrá, F. (2002). Purification and characterization of an arginine aminopeptidase from *Lactobacillus sakei*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 1980-1987.
- Savić, Z., Savić, I. (2004). *Sausage Casings*. Victus, Vienna.
- Schneider, W., Rede, R. (1999). Neorganske soli i hidrokoloide u proizvodnji polukonzervi – struktura, svojstva i delovanje. U: *Tehnologija proizvodnje i kvalitet*

- konzervi od mesa u komadima (str. 125-142), urednik Lj. Petrović. Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Seidman, J.G., Seidman, C. (2001). The genetic basis for cardiomyopathy: from mutation identification to mechanistic paradigms. *Cell*, 104, 557-567.
  - Sentandreu, M.A., Armenteros, M., Calvete, J.J., Ouali, A., Aristoy, M.C., Toldrá, F. (2007). Proteomic identification of actin-derived oligopeptides in dry-cured ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3613-3619.
  - Sentandreu, M.A., Coulis, G., Ouali, A. (2002). Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends in Food Science and Technology*, 13, 400-421.
  - Sentandreu, M.A., Toldrá, F. (2001). Dipeptidyl peptidase activities along the processing of Serrano dry-cured ham. *European Food Research and Technology*, 213, 83-87.
  - Severini, C., De Pilli, T., Baiano, A. (2003). Partial substitution of pork backfat with extra-virgin olive oil in “salami” products: Effects on chemical, physical and sensorial quality. *Meat Science*, 64(3), 323-331.
  - Sl. glasnik RS, br. 18/2010. Zakon o oznakama geografskog porekla.
  - Sl. glasnik RS, br. 31/2012. Pravilnik o kvalitetu usitnjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa.
  - Sl. glasnik RS, br. 92/2012. Pravilnik o obliku i sadržini oznake geografskog porekla, kao i o načinu kontrole označavanja poljoprivrednih i prehrambenih proizvoda sa oznakama geografskog porekla.
  - Soriano Pérez, A., García Ruiz, A. (2003). Influence of crossbreed on the degradation of myofibrillar proteins and on the cathepsin B+L activity in dry cured hams. *European Food Research & Technology*, 217, 93-99.
  - Sorimachi, H., Suzuki, K. (2001). The structure of calpain. *Journal of Biochemistry*, 129, 653-664.
  - Spaziani, M., Del Torre, M., Stecchini, L. (2009). Changes of physicochemical, microbiological, and textural properties during ripening of Italian low-acid sausages. Proteolysis, sensory and volatile profiles. *Meat Science*, 81, 77-85.
  - SRPS ISO 1442 (1998). Meso i proizvodi od mesa. Određivanje sadržaja vlage.
  - SRPS ISO 2917 (2004). Meso i proizvodi od mesa. Merenje pH.
  - SRPS ISO 936 (1999). Meso i proizvodi od mesa. Određivanje ukupnog pepela.
  - SRPS ISO 937 (1992). Meso i proizvodi od mesa. Određivanje sadržaja azota.

- Stepanov, Lj., Tojagić, S. (1969). Prikaz termodinamičkih veličina za vreme tehnološkog procesa fermentacije fermentovanih kobasica. Revija industrije mesa, 3-4, 11-19.
- Stevenson, B.J., Morton, J.D., Ilian, M.A., Bickerstaffe, R. (2002). Effect of muscle stretching on titin and calpain 3: Implication for tenderness. Proceedings of the 48<sup>th</sup> International Congress of Meat Science and Technology, 598-599 .
- Summo, C., Caponio, F., Tricarico, F., Pasqualone, A. i Gomes, T. (2010). Evolution of the volatile compounds of ripened sausages as a function of both storage time and composition of packaging atmosphere. Meat Science, 86, 839-844.
- Talon R., Leroy-Sétrin S., Fadda S. (2004). Dry Fermented sausages. In: Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology (1<sup>st</sup> ed.), edited by Y.H. Hui, L. Meunier-Goddik, A.S. Hansen, J. Josephsen, W.-K. Nip, P.S. Stanfield, F. Toldrá (pp. 397-416). New York: Marcel Dekker Inc.
- Talon, R., Leroy, S., Lebert, I. (2007). Microbial ecosystems of traditional fermented meat products: the importance of indigenous starters. Meat Science, 77(1), 55-62.
- Talon, R., Leroy, S., Lebert, I., Giammarinaro, P., Chacornac, J.P., Latorre-Moratalla, M., Vidal-Carou, C., Zanardi, E., Conter, M., Lebecque, A. (2008). Safety improvement and preservation of typical sensory qualities of traditional dry fermented sausages using autochthonous starter cultures. Int. J. Food Microbiol. 15, 227-234.
- Talon, R., Leroy-Sétrin, S., Fadda, S. (2002). Bacterial starters involved in the quality of fermented meat products. In: Research advances in the quality of meat and meat products, edited by F. Toldrá (pp. 175-191). Trivandrum, India: Research Singpost.
- Tasic, T., Ikonić, P., Mandić, A., Jokanović, M., Tomović, V., Savatić, S., Petrović, Lj. (2012). Biogenic amines content in traditional dry fermented sausage *Petrovska klobása* as possible indicator of good manufacturing practice. Food Control, 23, 1, 107-112.
- Tasić, T. (2012). Formiranje biogenih amina u tradicionalnoj fermentisanoj kobasici (*Petrovska klobása*) tokom standardizacije bezbednosti i kvaliteta. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Tjener, K., Stahnke, L.H. (2007). Flavor. In: Handbook of fermented meat and poultry, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J.G. Sebranek, E.T. F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 227-239). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Toğrul, I.T., Pehlivan, D. (2002). Mathematical modelling of solar drying of apricots in thin layers. Journal of Food Engineering, 55, 209-216.
- Tojagić, S. (1997). Potreba standardizacije sremske kobasice kao nacionalnog proizvoda. Tehnologija Mesa, 6, 265-267.

- Toldrá F. (2006b). Biochemistry of fermented meat. In: Food biochemistry and food processing, edited by Y.H. Hui, W.K. Nip, L.M.L. Nollet, G. Paliyath, B.K. Simpson (pp. 641-658). Ames, Iowa, USA: Wiley-Blackwell.
- Toldrá F. (2006c). Meat fermentation. In: Handbook of food science, technology and engineering, vol. 4., edited by Y.H. Hui, E. Castell-Perez, L.M. Cunha, I. Guerrero-Lagarreta, H.H.Liang, Y.M. Lo, D.L. Marshall, W.K. Nip, F. Shahidi, F. Sherkat, R.J. Winger, K.L. Yam (pp. 181-1–182-12). Florida, USA: CRC Press.
- Toldrá F. (2007). Biochemistry of muscle and fat. In: Handbook of fermented meat and poultry, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J.G. Sebranek, E.T.F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 51-58). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Toldrá F., Flores M. (1998). The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38, 331-352.
- Toldrá F., Gavara R., Lagarón M. (2004). Fermented and Dry-Cured Meat: Packaging and Quality Control. In: Handbook of Food and Beverage Fermentation, edited by Y.H. Hui, L. Meunier-Goddik, A.S. Hansen, J. Josephsen, W.-K. Nip, P.S. Stanfield, F. Toldrá. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Toldrá, F. (1992). The enzymology of dry-curing of meat products. In: *New Technologies for Meat and Meat Products*, edited by F.J.M. Smulders, F. Toldrá, J. Flores, M. Prieto (pp. 209-231). Nijmegen, The Netherlands: Audet.
- Toldrá, F. (1998). Proteolysis and lipolysis in flavour development of drycured meat products. *Meat Science*, 49, 101-110.
- Toldrá, F. (2002). *Dry-cured meat products*: Trumbull, Connecticut: Food & Nutrition press, inc.
- Toldrá, F. (2004). Dry-Cured Ham. In: Handbook of Food and Beverage Fermentation, edited by Y.H. Hui, L. Meunier-Goddik, A.S. Hansen, J. Josephsen, W.-K. Nip, P.S. Stanfield, F. Toldrá. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Toldrá, F. (2006a). Biochemistry of processing meat and poultry. In: *Food Biochemistry and Food Processing*, edited by Y.H. Hui, W.K. Nip, M.L. Nollet, G. Paliyath B.K. Simpson (pp. 315-335). Ames, Iowa: Blackwell Publishing.
- Toldrá, F. (2006d). The role of muscle enzymes in dry cured meat products with different drying conditions. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 164-168.
- Toldrá, F., Aristoy, M.C. (2010). Dry - Cured Ham. In: *Handbook of meat processing*, edited by F. Toldrá (pp. 351-362). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Toldrá, F., Aristoy, M.C., Flores, M. (2000). Contribution of muscle aminopeptidases to flavor development in dry-cured ham. *Food Research International*, 33, 181-185.

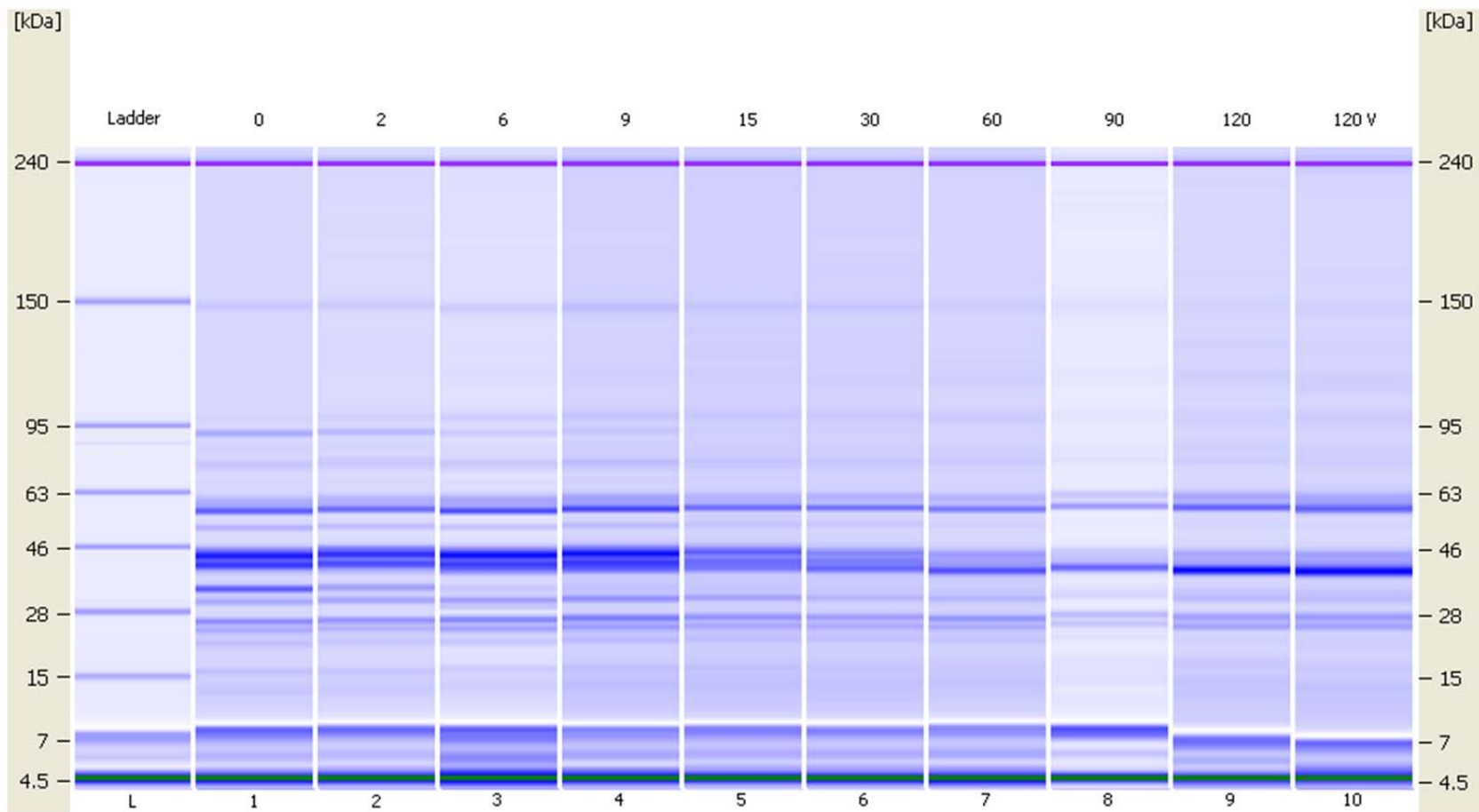


- Toldrá, F., Flores, M. (2000). The use of muscle enzymes as predictors of pork meat quality. *Food Chemistry*, 69 (4), 387-395.
- Toldrá, F., Nip, W.K., Hui, Y.H. (2007). Dry-fermented sausages: an overview. In: *Handbook of fermented meat and poultry*, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J.G. Sebranek, E.T.F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 321-325). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Toldrá, F., Reig, M. (2006). Biochemistry of Raw Meat and Poultry. In: *Food Biochemistry and Food Processing*, edited by Y.H. Hui, W.K. Nip, M.L. Nollet, G. Paliyath, B.K. Simpson (pp. 293-314). Ames, Iowa: Blackwell Publishing.
- Toldrá, F., Rico, E., Flores, J. (1992). Activities of pork muscle proteases in model cured meat systems. *Biochimie*, 74 (3), 291-296.
- Toldrá, F., Rico, E., Flores, J. (1993). Cathepsin B, D, H and L activities in the processing of dry-cured ham. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62 (2), 157-161.
- Toldrá, F., Sanz, Y., Flores, M. (2001). Meat fermentation technology. In: *Meat Science and Applications*, edited by Y.H. Hui, W.K. Nip, R.W. Rogers, O.A. Young (pp. 537-561). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Tomović, V. (2009). Uticaj brzine hlađenja polutki, vremena otkoštavanja post mortem i postupka salamurenja na kvalitet i bezbednost kuvane šunke. Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- Torbica, A.M., Živančev, D.R., Nikolić, Z.T., Đorđević, V.B. i Nikolovski, B.G. (2010). Advantages of the Lab-on-a-Chip method in the determination of the Kunitz trypsin inhibitor in soybean varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58 (13), 7980-7985.
- Valent, V.J. (2001). Sušenje u procesnoj industriji. Tehnološko-matalurški fakultet, Beograd.
- Vandecandelaere, E., Arfini, F., Belletti, B., Marescotti, A. (2009). Linking people, places and products - a guide for promoting quality linked to geographical origin and sustainable geographical indications (2<sup>nd</sup> ed.). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Vasilev, D., Vuković, I., Tomović, V., Jakanović, M., Vasiljević, N., Milanović-Stevanović, M., Tubić, M. (2009). Važnije fizičke, fizičko-hemijske i senzorske osobine kvaliteta funkcionalnih fermentisanih kobasica. *Tehnologija mesa*, 50, 342-350.
- Vereš, M. (1991). Osnovi konzervisanja namirnica. IDP "Naučna knjiga", Beograd.

- Vesković-Moračanin, S., Obradović, D. (2009). The microbiological ecosystem of traditional fermented sausages in Serbia-possibility to create our own starter cultures. *Tehnologija mesa*, 50, 60-67.
- Vignolo, G., Fontana, C. Fadda, S. (2010). Semidry and Dry Fermented Sausages. In: *Handbook of meat processing*, edited by F. Toldrá (pp. 379-398). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Vuković I. (2006). *Osnove tehnologije mesa*. Treće izmenjeno i dopunjeno izdanje, Veterinarska komora Srbije, Beograd, 2006.
- Vuković I., Petrović Lj., Vasilev D., Saičić S. (2011a). Untersuchung von Rohdauerwürsten aus Serbien, Mikroflora und Qualität von nach traditionellem verfahren hergestellten Rohwürsten aus Nordserbien. *Fleischwirtschaft*, 91, 118-122.
- Vuković I., Saičić S., Vasilev D. (2011b). Prilog poznavanju važnijih parametara kvaliteta tradicionalnog (domaćeg) kulena. *Tehnologija mesa*, 1, 134–140.
- Vuković I., Vasilev D., Saičić S., Bunčić, O. (2004). Mikroflora i fizičko-hemijski pokazatelji kvaliteta kulena. *Tehnologija mesa*, 45 (3-4), 104–107.
- Vuković I., Vasilev D., Saičić S., Ivanković, S. (2012). Ispitivanje važnijih promena u toku zrenja tradicionalne fermentisane kobasice lemeški kulen. *Tehnologija mesa*, 53 (2), 140–147.
- Warnants, N., Van Oeckel, M.J., Boucqué, C.V. (1998). Effect on incorporation of dietary polyunsaturated fatty acids in pork backfat on the quality of salami. *Meat Science*, 49, 435–445.
- Warriss, P. D. (2010). *Meat science: An introductory text* (2<sup>nd</sup> ed.). Wallingford: CABI.
- Završni izveštaj o realizaciji projekta: Razvoj tehnologije sušenja i fermentacije *Petrovačke kobasice (Petrovska klobasa – oznaka geografskog porekla)* u kontrolisanim uslovima (TR 20037) (2011). Rukovodilac projekta: prof. dr Ljiljana Petrović.
- Zeuthen, P. (2007). A Historical Perspective of Meat Fermentation. In: *Handbook of Fermented Meat and Poultry*, edited by F. Toldrá, Y.H. Hui, I. Astiasarán, W.K. Nip, J. G. Sebranek, E.T.F. Silveira, L.H. Stahnke, R. Talon (pp. 3-8). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Zukál, E., Incze, K. (2010). Drying. In: *Handbook of meat processing*, edited by F. Toldrá (pp. 219-229). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing.

## PRILOG 1

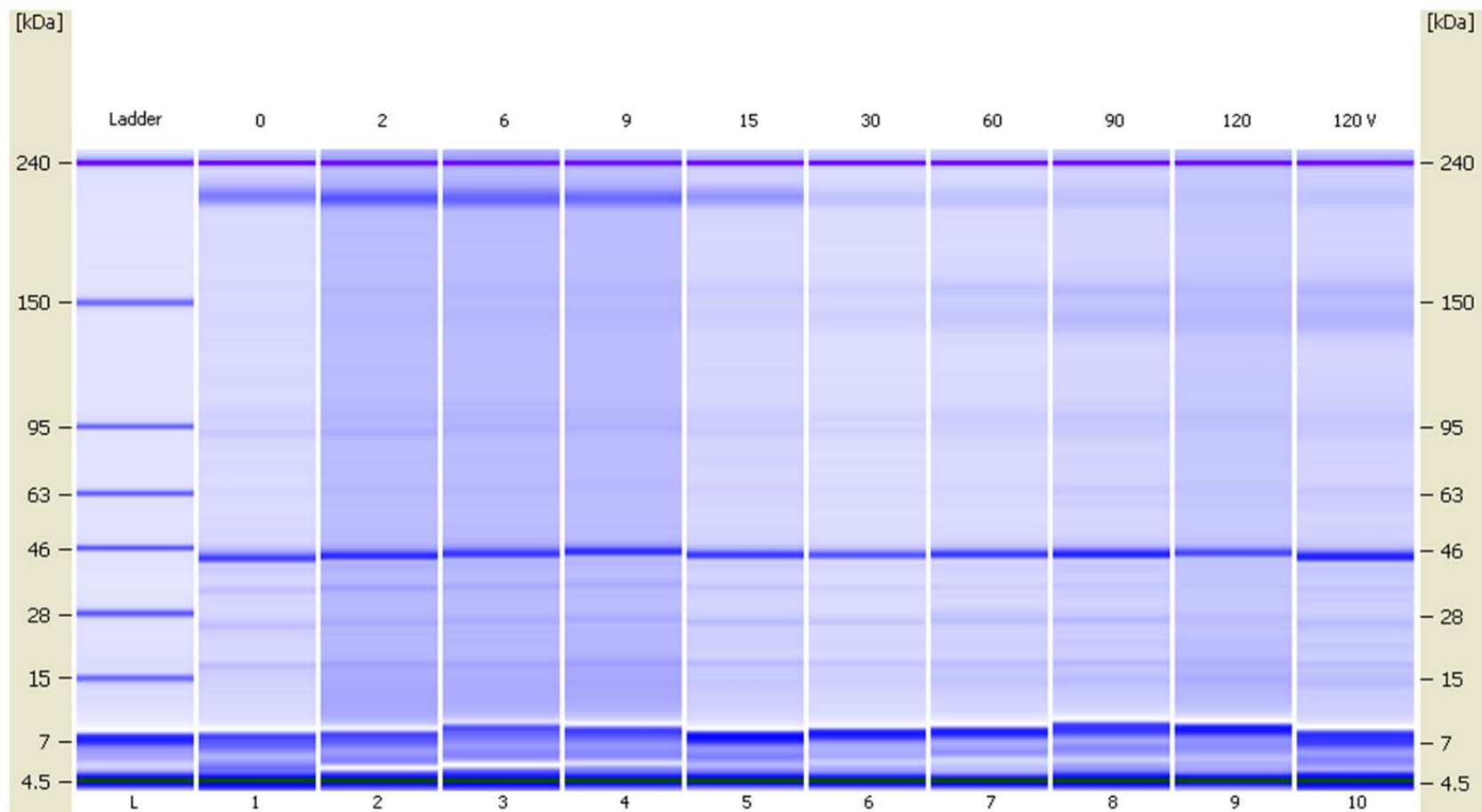
Slika 1. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekularnih masa prisutnih u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica B2 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekularnih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

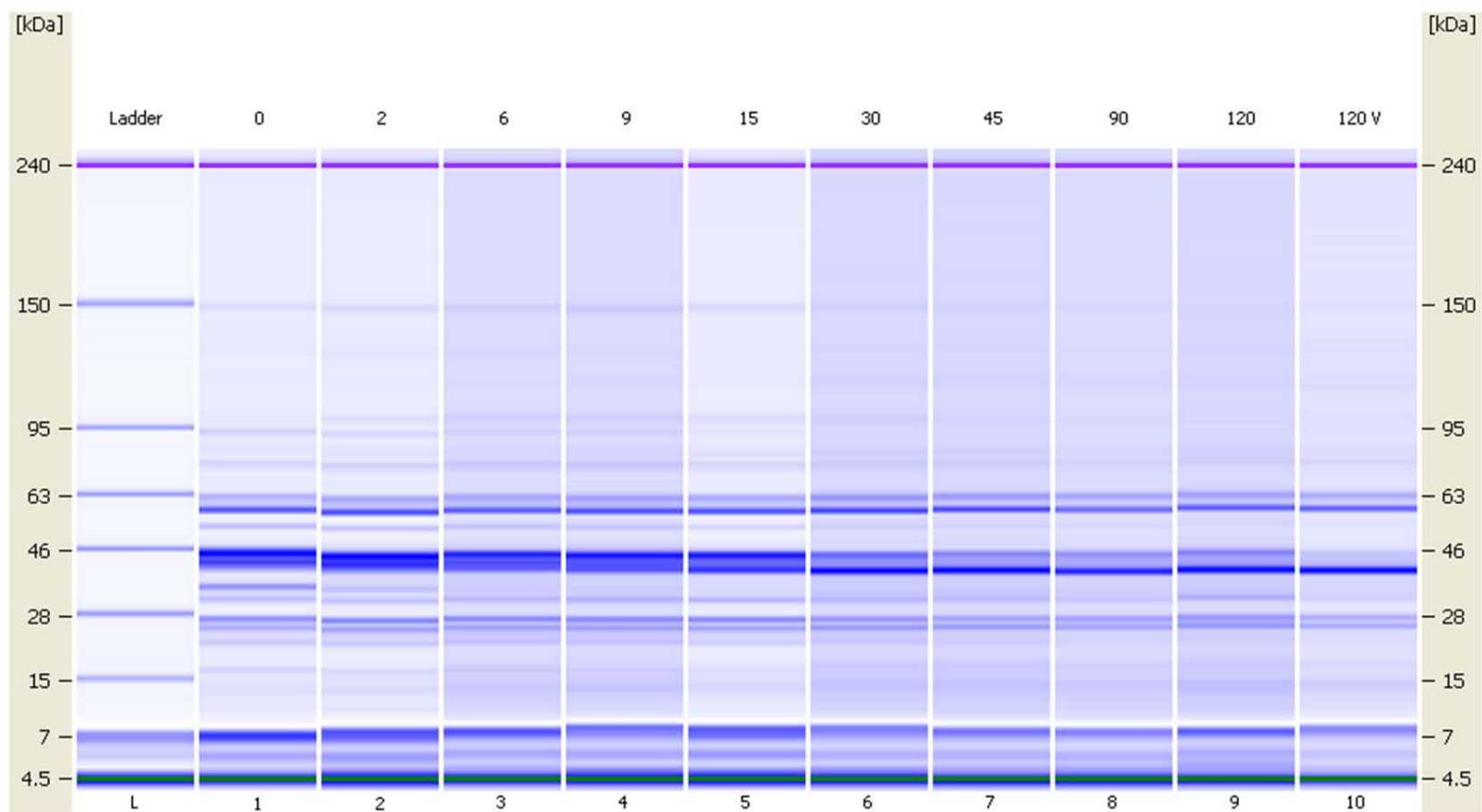
Slika 2. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica B2 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

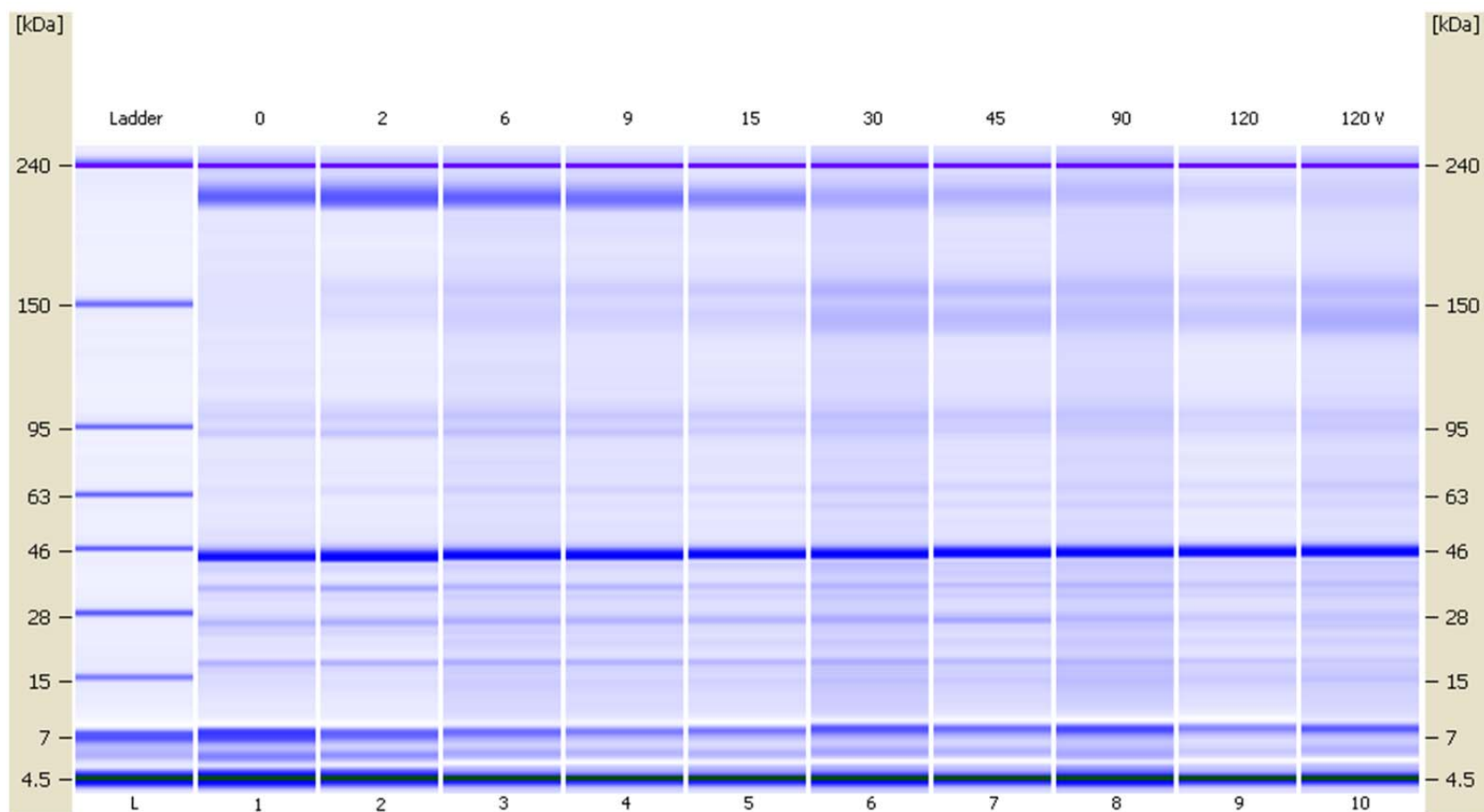
Slika 3. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekularnih masa prisutnih u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica B4 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekularnih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

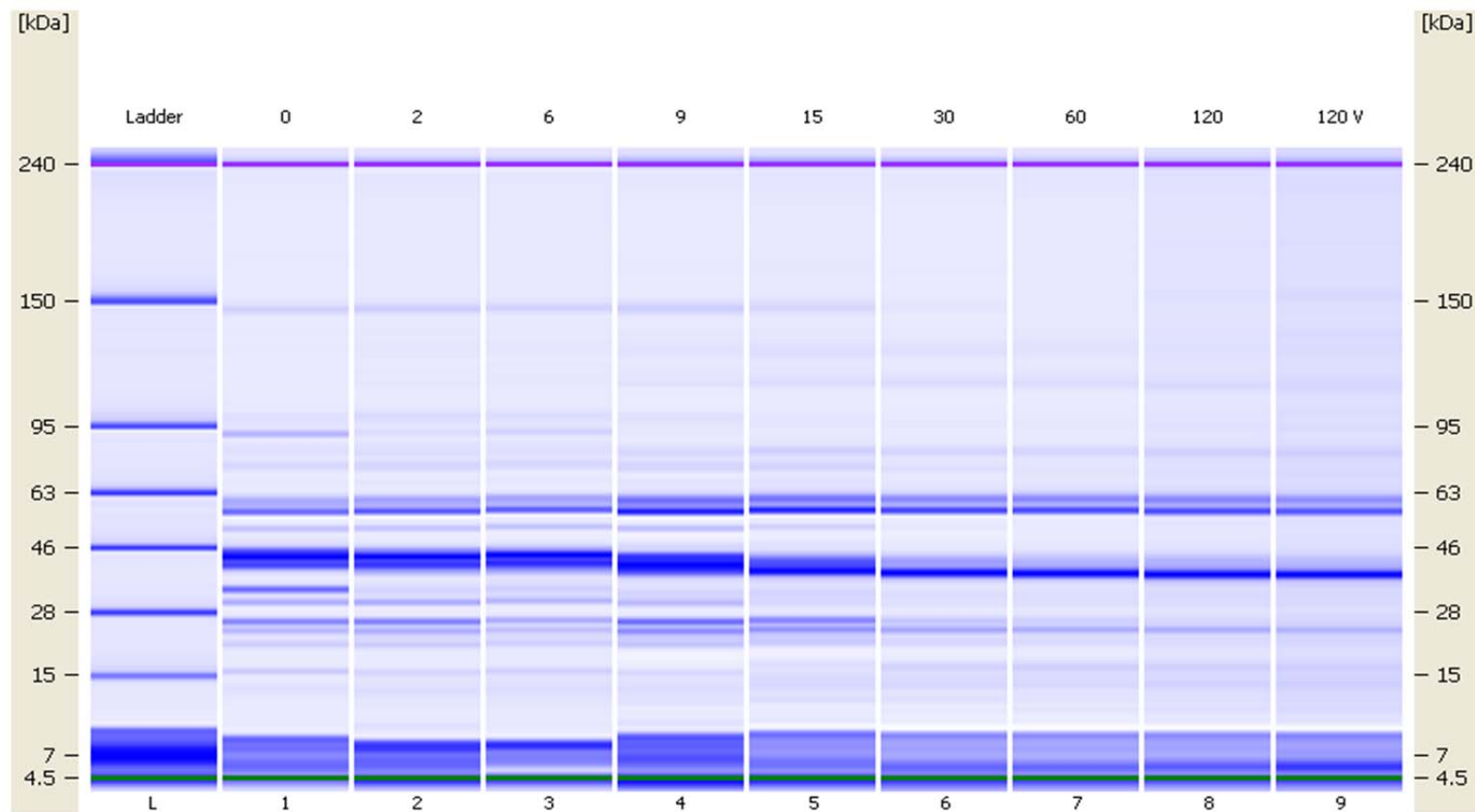
Slika 4. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica B4 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

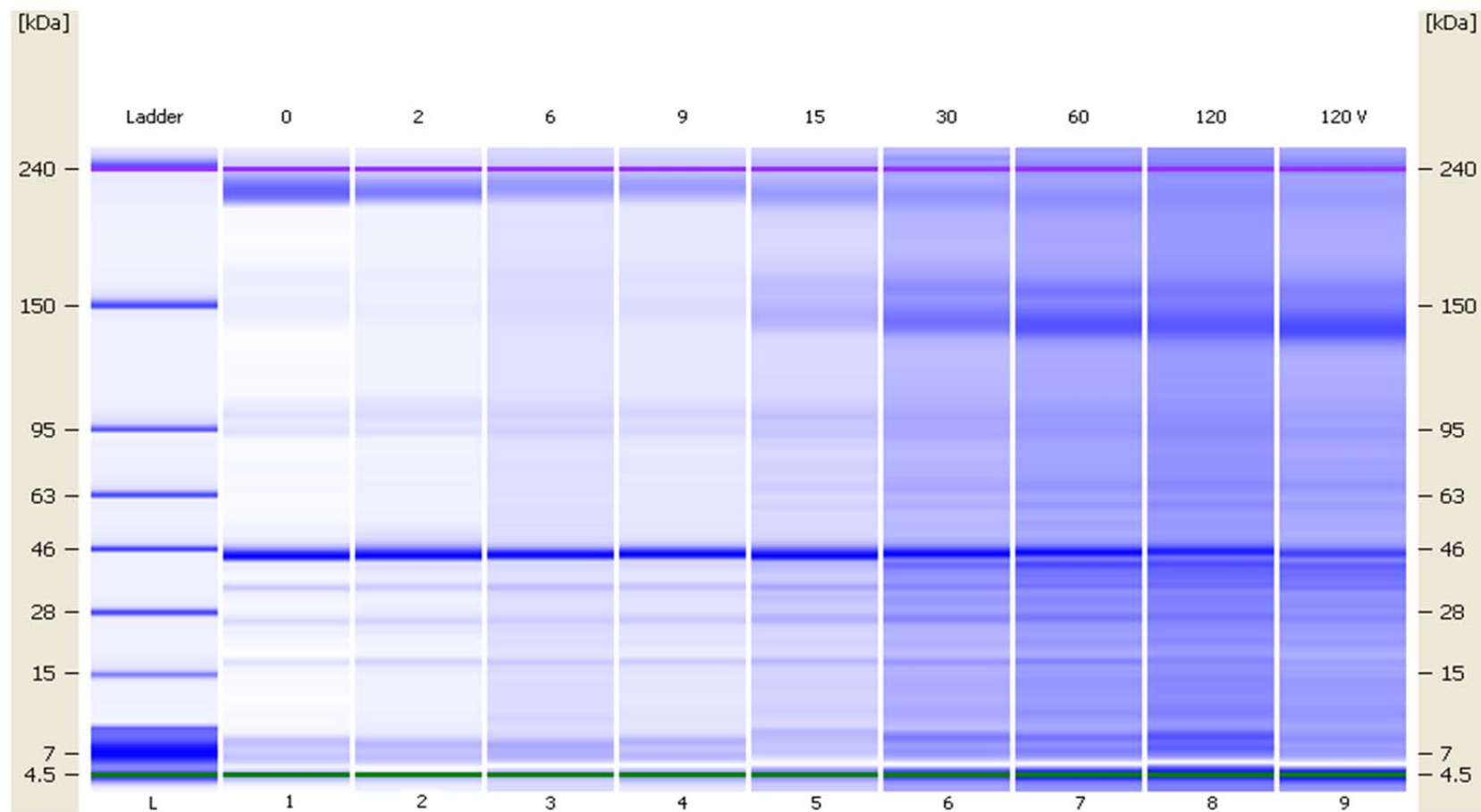
Slika 5. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekularnih masa prisutnih u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica C2 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 9)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekularnih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

Slika 6. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica C2 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 9)

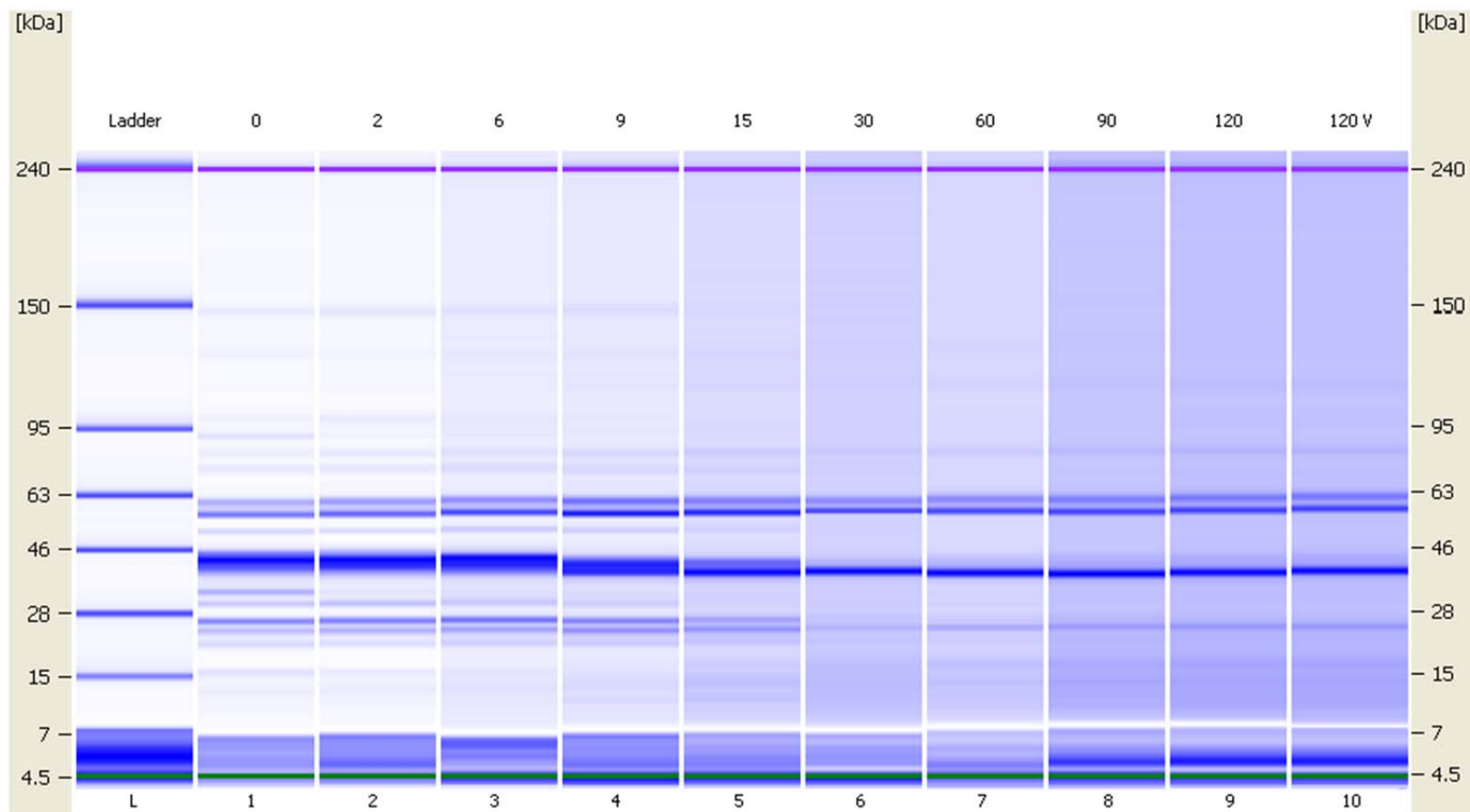


Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.



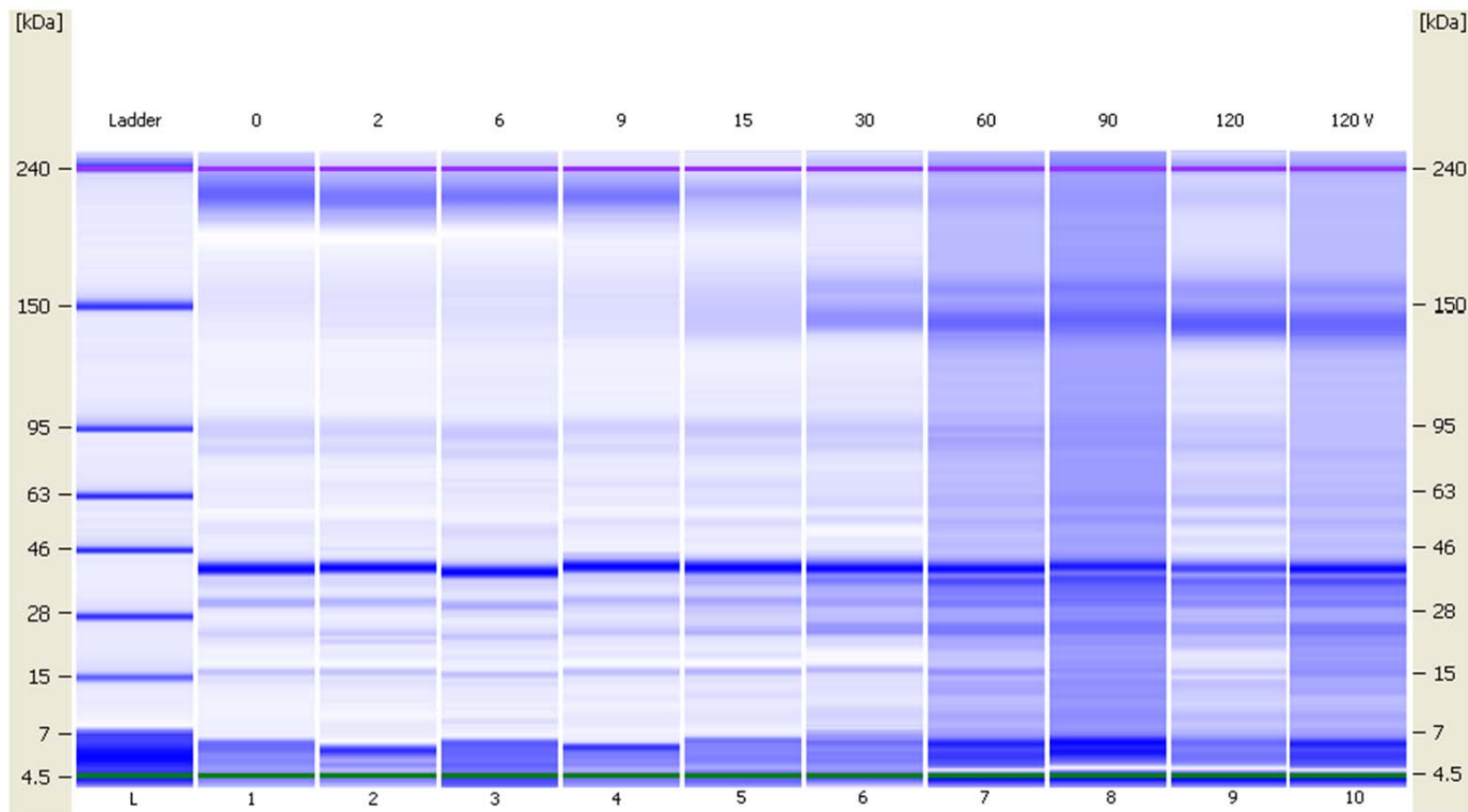
Slika 7. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekularnih masa prisutnih u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica C3 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standarad proteina u opsegu molekularnih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

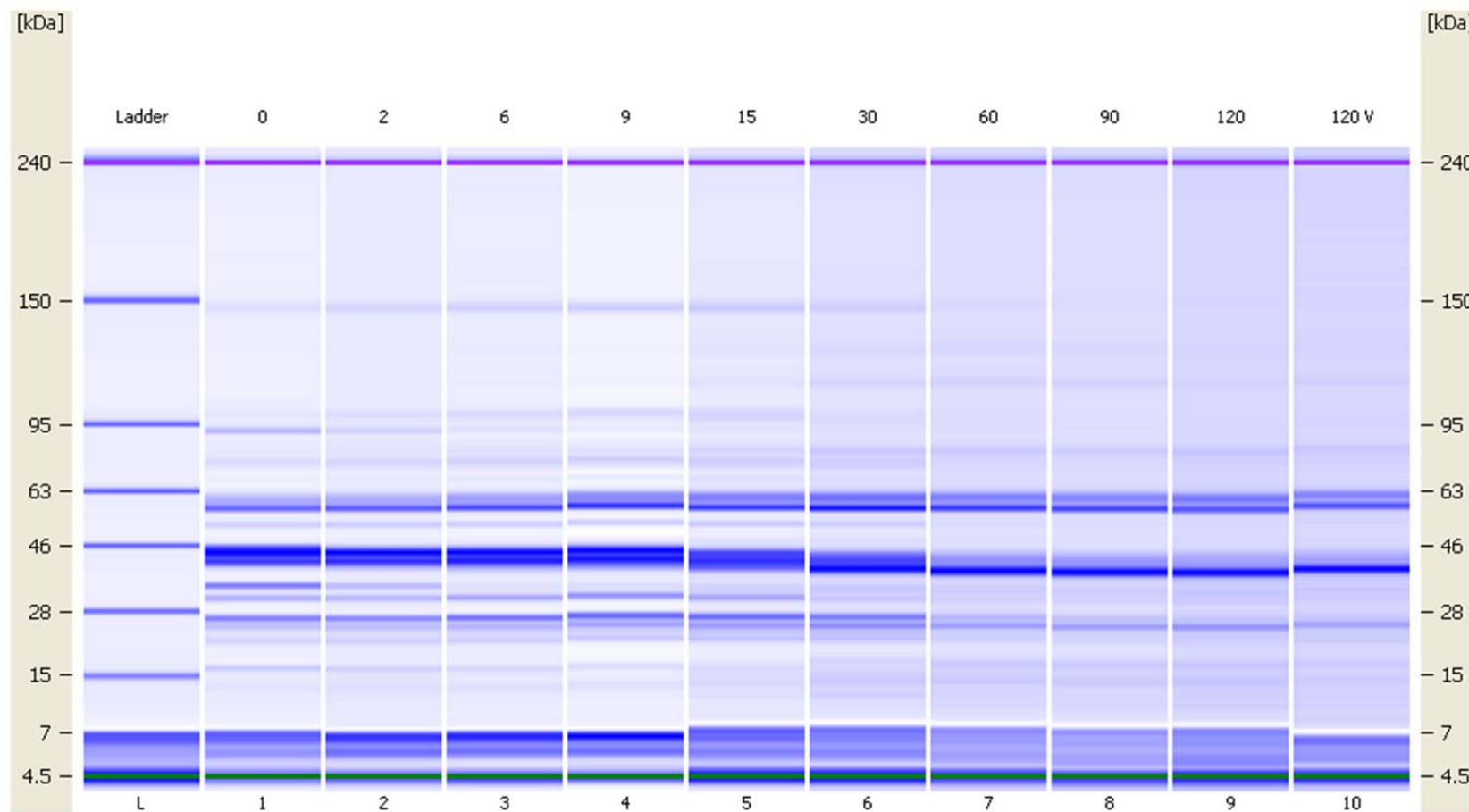
Slika 8. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica C3 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

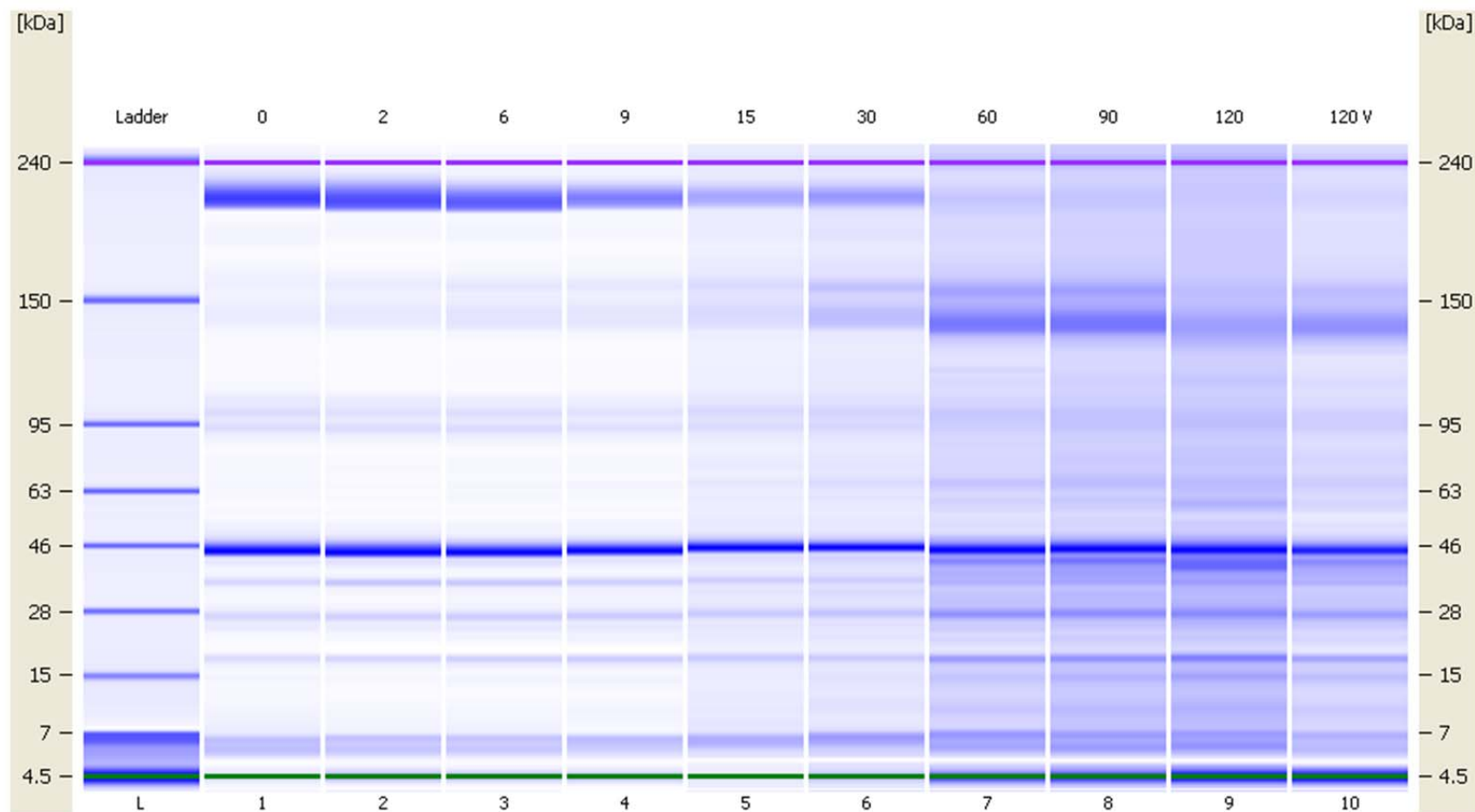
Slika 9. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica D1 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

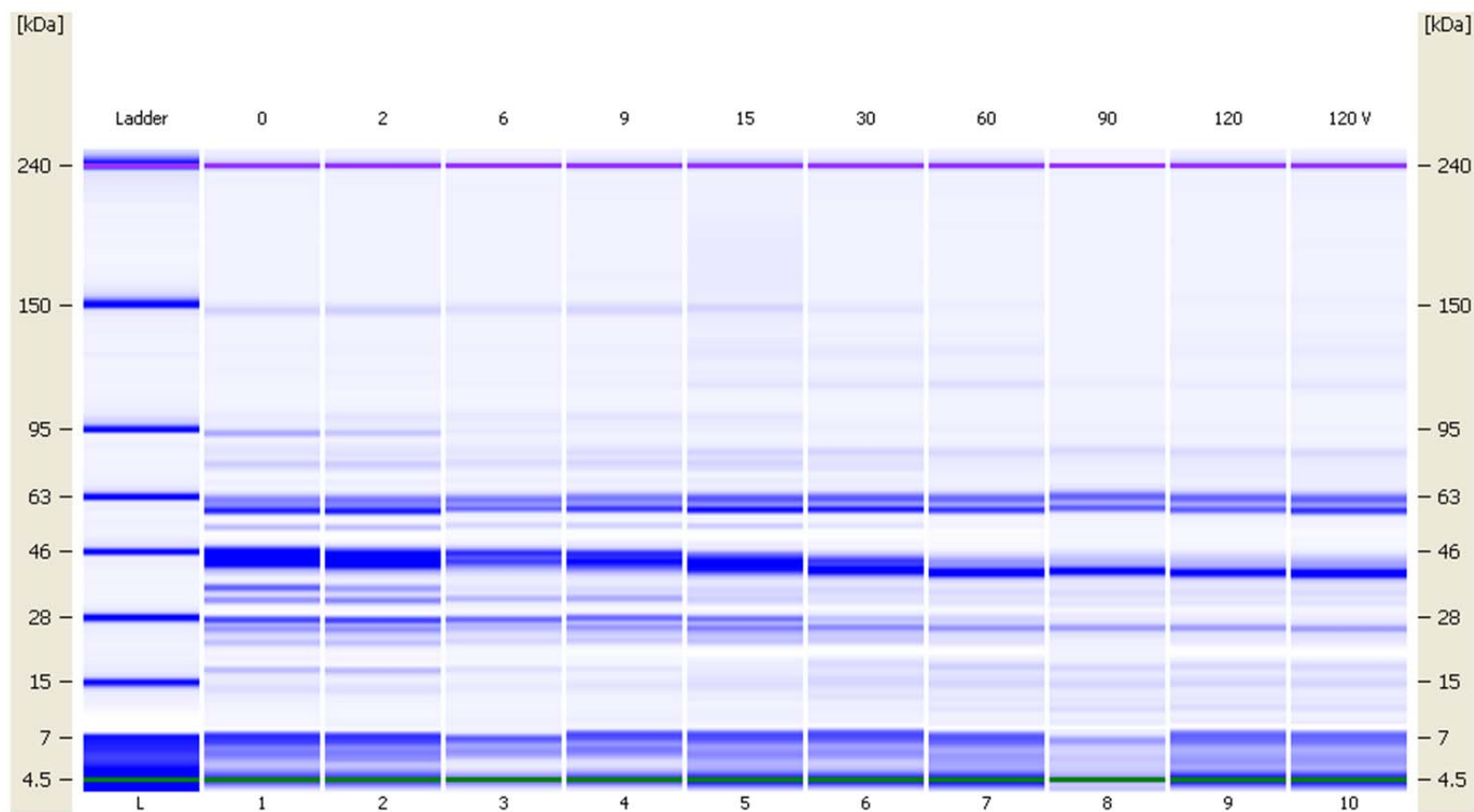
Slika 10. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica D1 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

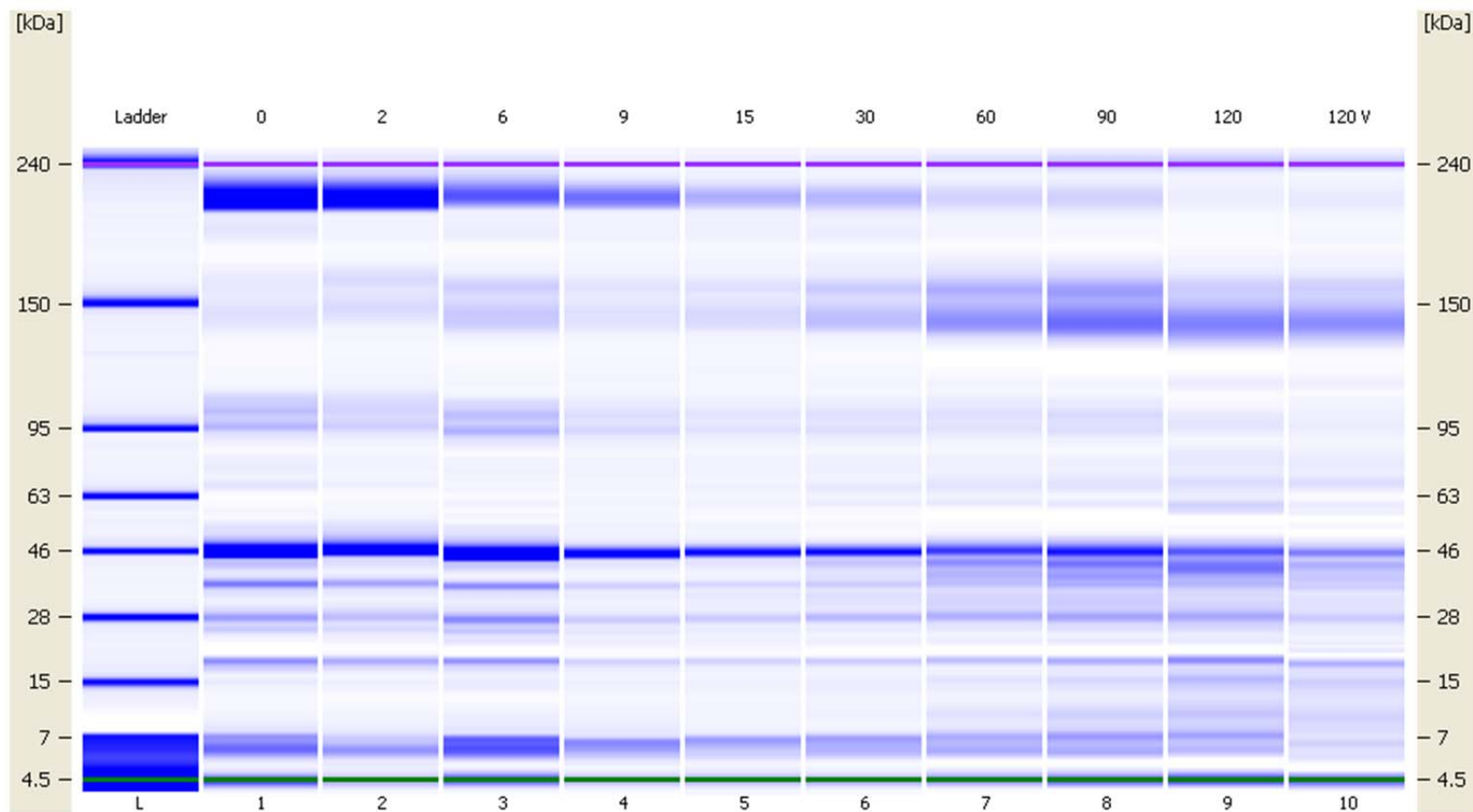
Slika 11. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica D2 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

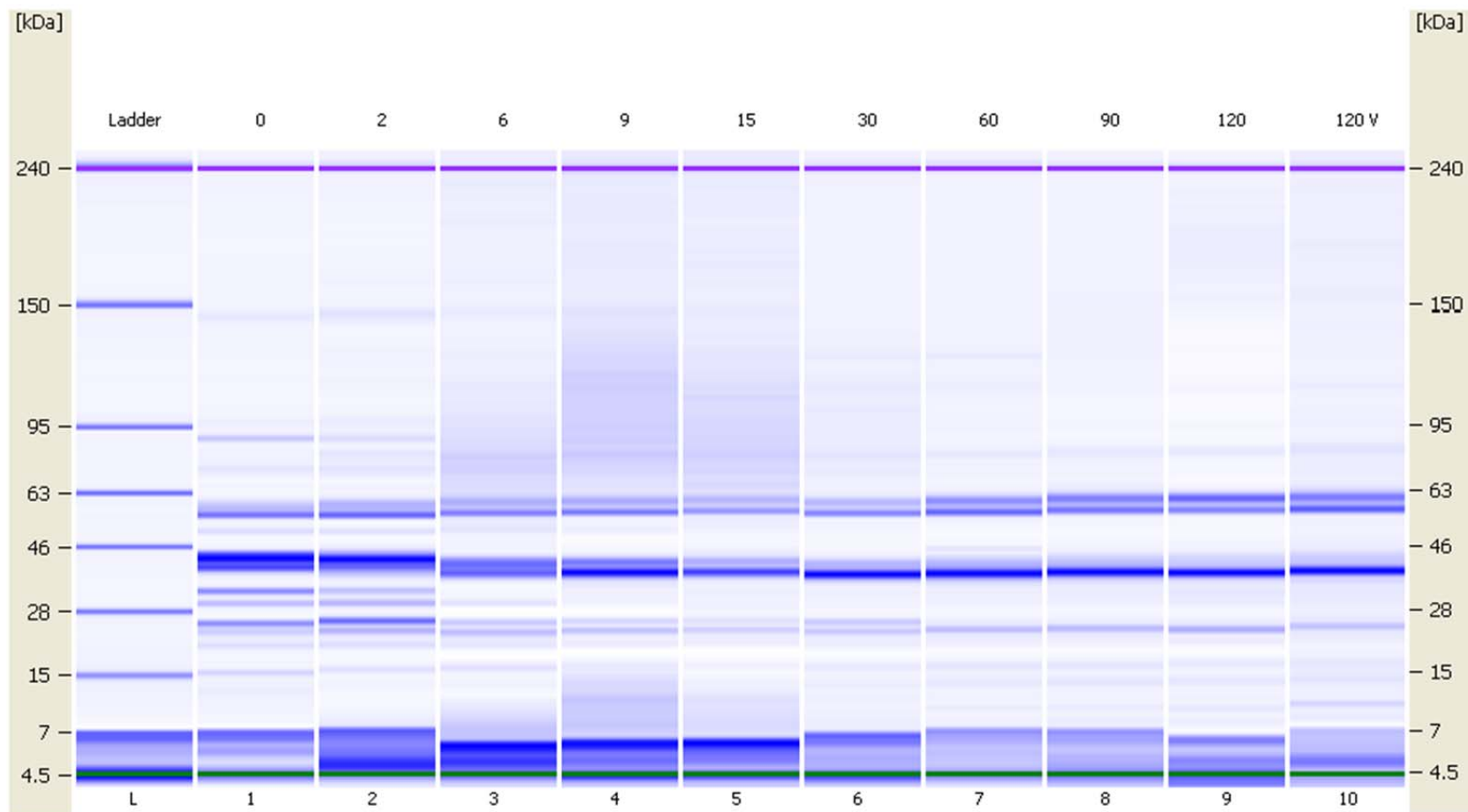
Slika 12. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica D2 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

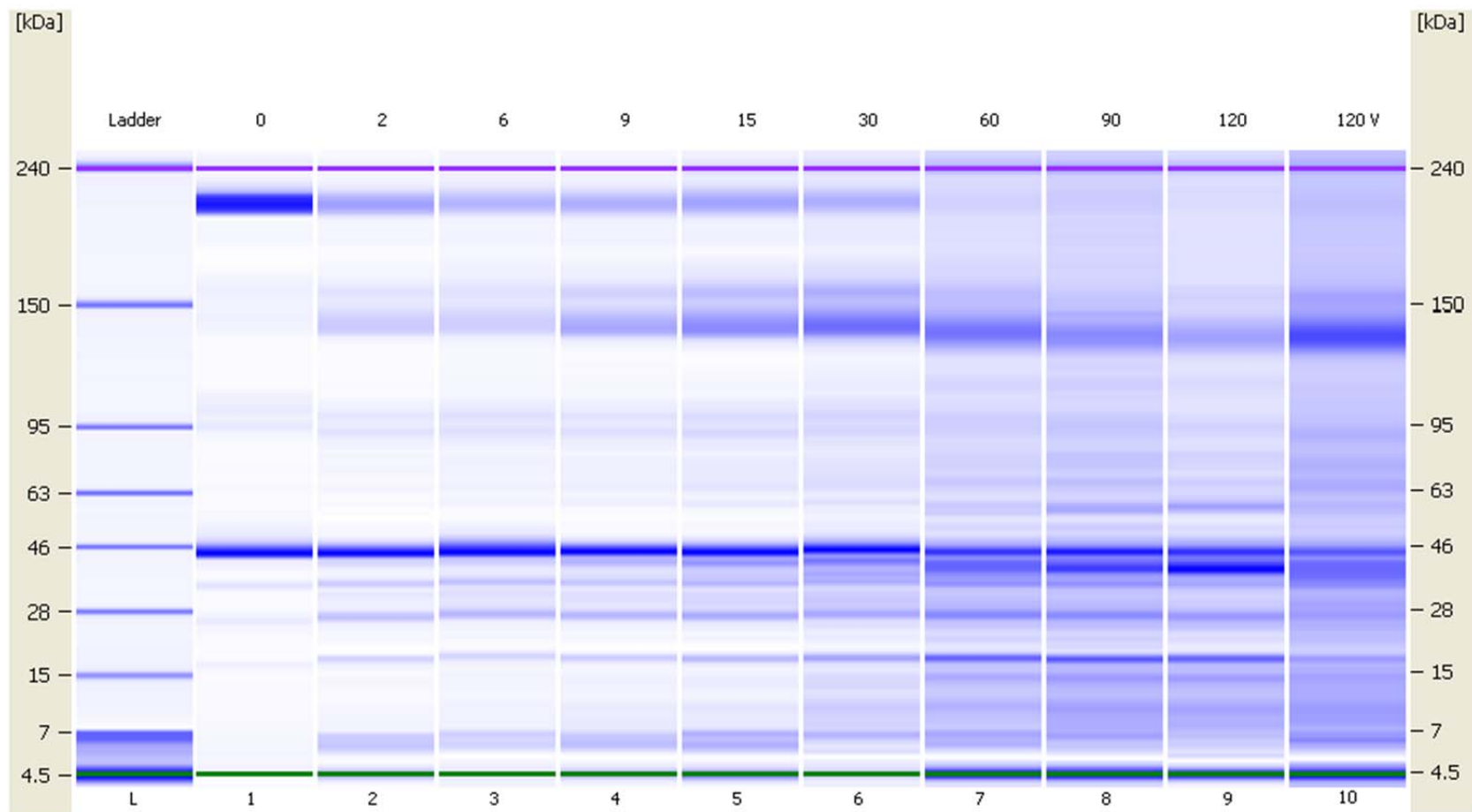
Slika 13. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica E1 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

Slika 14. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica E1 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)

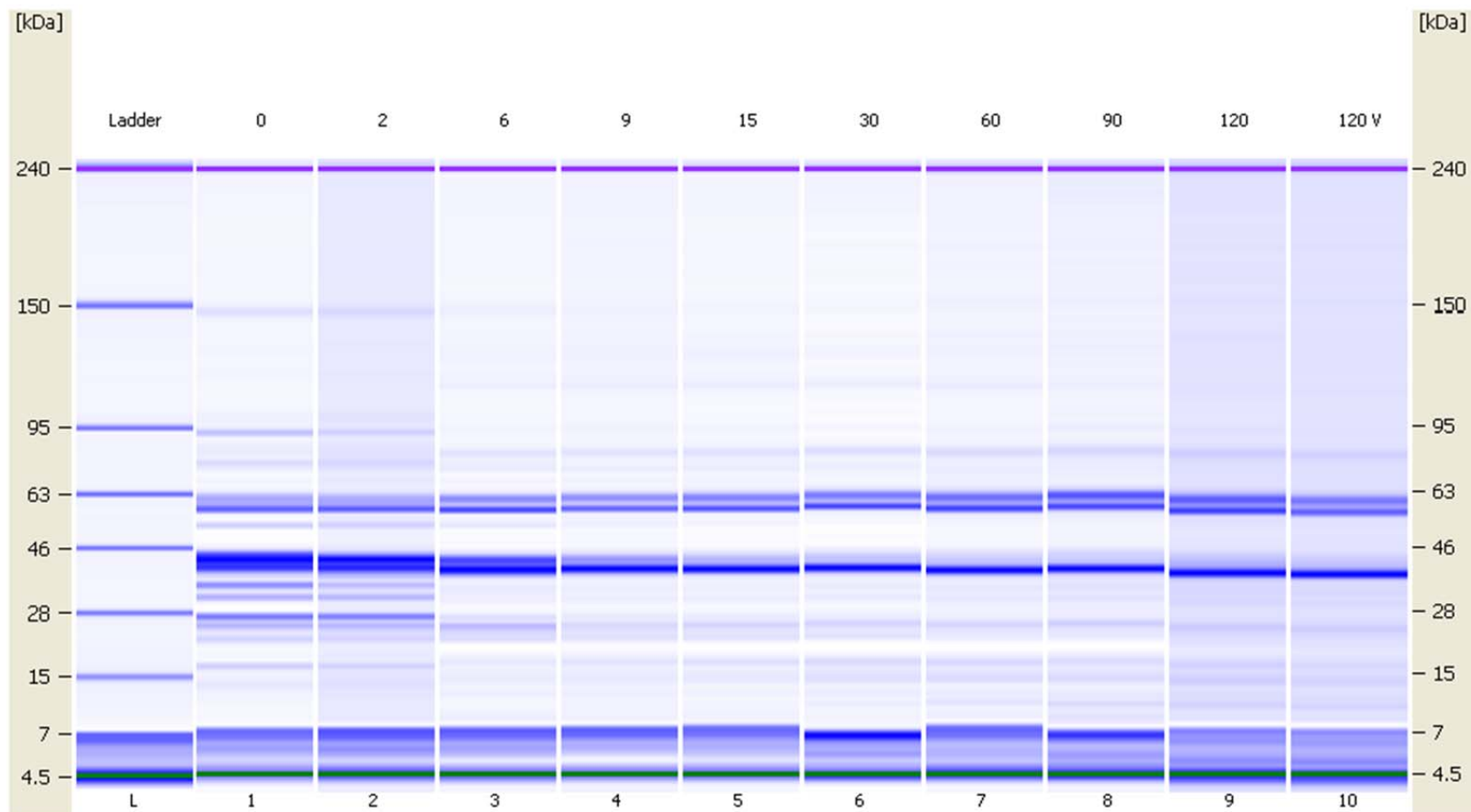


Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.



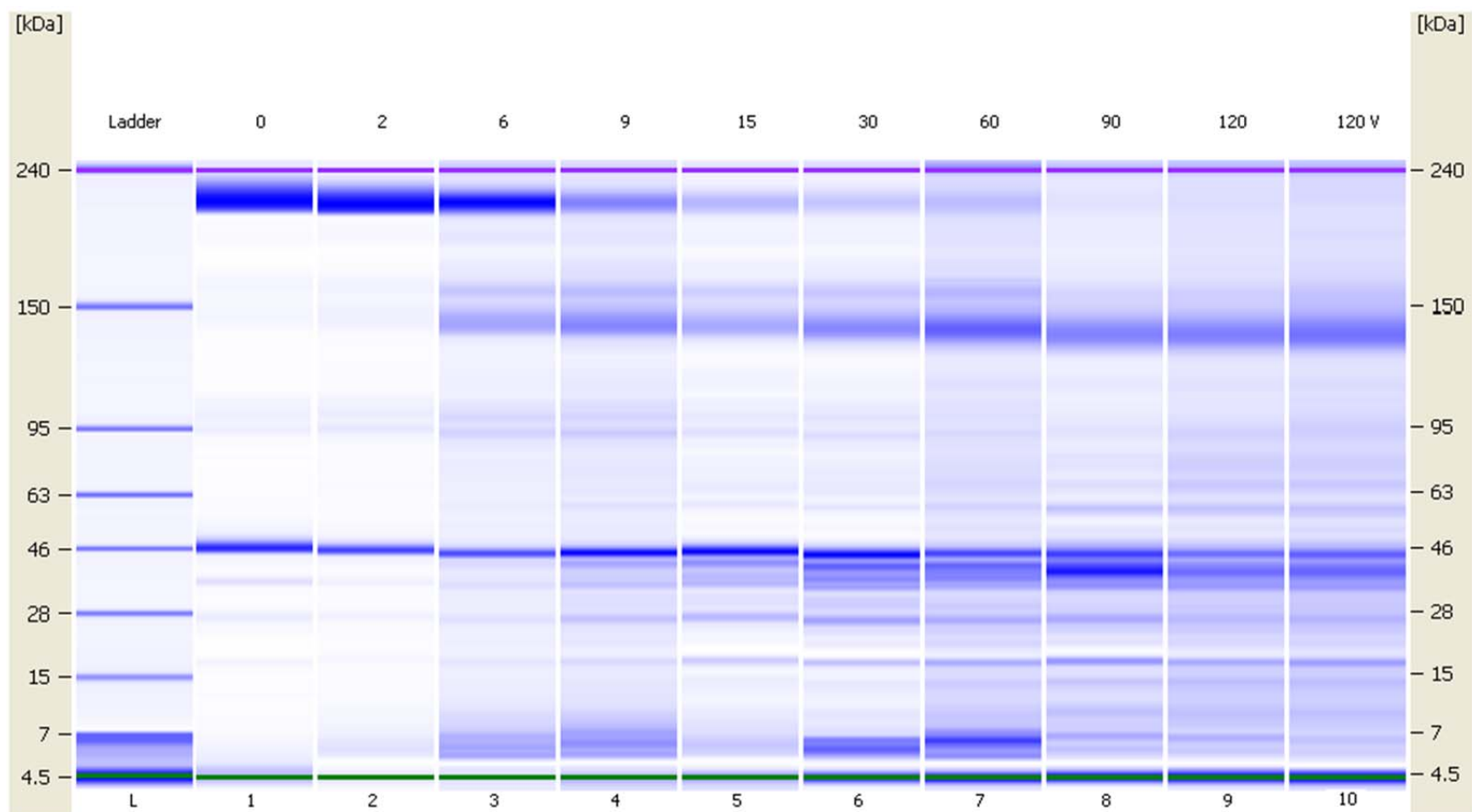
Slika 15. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu sarkoplazmatskih proteina kobasica E2 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

Slika 16. Izgled klasičnog gela dobijenog elektroforetskim razdvajanjem (Lab-on-a-Chip metoda) proteinskih frakcija različitih molekulskih masa prisutnih u ekstraktu miofibrilarnih proteina kobasica E2 grupe tokom 120 dana proizvodnje (trake od 1 do 10)



Traka L - Ladder, standard proteina u opsegu molekulskih masa od 4.5 do 240 kDa.

V – kobasice koje su po završetku perioda sušenja čuvane upakovane u vakuumu (V) do 120. dana.

## PRILOG 2

Tabela 1. Prosečne vrednosti ocena pojedinih senzornih svojstava i ukupan senzorni kvalitet (%) grupa *Petrovačke kobasice* izrađenih u 1. i 2. proizvodnoj sezoni, od kraja procesa sušenja do 120. dana, kako neupakovanih, tako i kobasica upakovanih u vakuumu (V) i modifikovanoj atmosferi (M)

Grupa	Vreme (dan)																			
	Kraj sušenja					120					120V					120M				
	SI	ISP	BOB	MU	TS	SI	ISP	BOB	MU	TS	SI	ISP	BOB	MU	TS	SI	ISP	BOB	MU	TS
<b>A2</b>	5,00 ± 0,00	4,26 ± 0,16	4,00 ± 0,00	4,10 ± 0,15	4,25 ± 0,27	4,47 ± 0,16	4,48 ± 0,11	4,52 ± 0,15	3,98 ± 0,11	4,20 ± 0,06	4,61 ± 0,11	4,50 ± 0,07	4,58 ± 0,08	4,06 ± 0,15	4,14 ± 0,13	4,22 ± 0,08	4,32 ± 0,13	4,18 ± 0,10	4,25 ± 0,09	4,22 ± 0,11
PO	<b>4,24</b>					<b>4,27</b>					<b>4,32</b>					<b>4,25</b>				
UK (%)	<b>84,7</b>					<b>84,4</b>					<b>86,3</b>					<b>85,0</b>				
<b>B2</b>	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	4,95 ± 0,08	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	4,93 ± 0,10	4,88 ± 0,10	4,83 ± 0,05	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	4,93 ± 0,10	4,90 ± 0,08	4,90 ± 0,08	4,88 ± 0,05	4,88 ± 0,05	4,98 ± 0,05	4,95 ± 0,06
PO	<b>4,98</b>					<b>4,96</b>					<b>4,94</b>					<b>4,92</b>				
UK (%)	<b>99,7</b>					<b>99,1</b>					<b>98,8</b>					<b>98,5</b>				
<b>B4</b>	4,38 ± 0,21	3,83 ± 0,20	4,25 ± 0,27	4,65 ± 0,12	4,22 ± 0,19	3,50 ± 0,00	3,73 ± 0,03	4,42 ± 0,16	4,18 ± 0,17	3,31 ± 0,39	3,60 ± 0,16	3,96 ± 0,05	4,66 ± 0,15	4,09 ± 0,12	4,15 ± 0,14	3,61 ± 0,17	4,02 ± 0,08	4,64 ± 0,18	4,43 ± 0,18	4,32 ± 0,24
PO	<b>4,29</b>					<b>3,91</b>					<b>4,10</b>					<b>4,26</b>				
UK (%)	<b>85,9</b>					<b>78,1</b>					<b>82,1</b>					<b>85,2</b>				
<b>C2</b>	4,43 ± 0,08	4,10 ± 0,09	3,79 ± 0,07	4,27 ± 0,15	3,92 ± 0,12	4,40 ± 0,00	3,85 ± 0,07	4,10 ± 0,08	4,00 ± 0,16	4,00 ± 0,20	4,60 ± 0,12	4,40 ± 0,08	4,55 ± 0,13	4,45 ± 0,23	4,55 ± 0,13	4,75 ± 0,07	4,25 ± 0,21	4,45 ± 0,18	4,20 ± 0,16	4,40 ± 0,23
PO	<b>4,12</b>					<b>4,02</b>					<b>4,48</b>					<b>4,34</b>				
UK (%)	<b>82,4</b>					<b>80,4</b>					<b>89,7</b>					<b>86,7</b>				
<b>C3</b>	4,48 ± 0,04	3,89 ± 0,10	3,94 ± 0,10	4,13 ± 0,10	3,95 ± 0,08	4,60 ± 0,08	4,35 ± 0,10	4,25 ± 0,21	4,55 ± 0,13	4,40 ± 0,16	4,60 ± 0,16	4,15 ± 0,13	4,35 ± 0,13	4,60 ± 0,08	4,55 ± 0,05	4,60 ± 0,08	4,20 ± 0,16	4,30 ± 0,16	4,25 ± 0,21	4,35 ± 0,05
PO	<b>4,05</b>					<b>4,44</b>					<b>4,44</b>					<b>4,30</b>				
UK (%)	<b>81,0</b>					<b>88,8</b>					<b>88,9</b>					<b>85,9</b>				

PO – ponderisana senzorna ocena,

UK (%) – ukupan senzorni kvalitet (%)

Pojedina senzorna svojstva: SI – spoljni izgled, ISP – izgled i sastav preseka, BOB – boja i održivost boje, MU – miris i ukus, TS – tekstura i/ili sočnost.

Tabela 2. Prosečne vrednosti ocena pojedinih senzornih svojstava i ukupan senzorni kvalitet (%) grupa *Petrovačke kobasice* izrađenih u 3. proizvodnoj sezoni, od kraja procesa sušenja do 120. dana, kako neupakovanih, tako i kobasica upakovanih u vakuumu (V)

Grupa	Vreme (dan)														
	Kraj sušenja					120					120V				
	SI	ISP	BOB	MU	TS	SI	ISP	BOB	MU	TS	SI	ISP	BOB	MU	TS
<b>D1</b>	4,44	4,46	4,20	4,23	4,18	4,17	4,03	4,12	4,23	3,73	3,15	4,15	4,19	4,30	4,22
PO	0,18	0,09	0,13	0,07	0,08	0,11	0,12	0,14	0,14	0,21	0,47	0,23	0,12	0,21	0,25
UK (%)			<b>4,30</b>					<b>4,08</b>					<b>4,12</b>		
			<b>85,9</b>					<b>81,6</b>					<b>82,4</b>		
<b>D2</b>	4,43	4,87	4,66	4,34	4,31	4,34	4,33	4,35	4,16	3,98	2,94	4,43	4,53	4,28	4,36
PO	0,18	0,11	0,17	0,20	0,22	0,11	0,19	0,12	0,17	0,14	0,61	0,13	0,09	0,06	0,13
UK (%)			<b>4,52</b>					<b>4,22</b>					<b>4,23</b>		
			<b>90,5</b>					<b>84,4</b>					<b>84,6</b>		
<b>E1</b>	4,09	2,90	2,77	3,72	3,21	3,88	3,55	3,45	3,78	3,21	3,96	3,74	3,84	3,96	3,98
PO	0,09	0,10	0,26	0,11	0,38	0,11	0,30	0,49	0,18	0,22	0,07	0,26	0,22	0,11	0,13
UK (%)			<b>3,33</b>					<b>3,60</b>					<b>3,89</b>		
			<b>66,7</b>					<b>72,0</b>					<b>77,8</b>		
<b>E2</b>	4,28	4,33	4,26	4,16	3,35	3,89	1,75	1,38	1,00	1,00	3,61	3,82	3,86	3,84	3,74
PO	0,04	0,10	0,39	0,17	0,21	0,10	0,80	0,52	0,00	0,00	0,14	0,17	0,21	0,21	0,27
UK (%)			<b>4,11</b>					<b>1,53</b>					<b>3,80</b>		
			<b>82,1</b>					<b>30,7</b>					<b>76,0</b>		

PO – ponderisana senzorna ocena,

UK (%) – ukupan senzorni kvalitet (%)

Pojedina senzorna svojstva: SI – spoljni izgled, ISP – izgled i sastav preseka, BOB – boja i održivost boje, MU – miris i ukus, TS – tekstura i/ili sočnost.