



UNIVERZITET U NOVOM SADU  
TEHNOLOŠKI FAKULTET NOVI SAD

Doktorska disertacija

**ODRŽIVOST PEKARSKOG PROIZVODA SA POVIŠENIM  
SADRŽAJEM VLAGE SA DODATKOM LEKOVITOG I  
ZAČINSKOG BILJA**

Mentor:

**Dr Sunčica Kocić-Tanackov  
Dr Đorđe Psodorov**

Kandidat:

**Dragana Plavšić,  
spec. mikrobiologije hrane**

NOVI SAD, 2021.

**UNIVERZITET U NOVOM SADU**  
**TEHNOLOŠKI FAKULTET, NOVI SAD**

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

---

**Redni broj:**

**RBR**

**Identifikacioni broj:**

**IBR**

**Tip dokumentacije:**

Monografska dokumentacija

**TD**

**Tip zapisa:**

Tekstualni štampani materijal

**TZ**

**Vrsta rada(dipl., mag., dokt.):**

Doktorska disertacija

**VR**

**Ime i prezime autora:**

Dragana Plavšić, dipl. inž. tehnologije,  
specijalista mikrobiologije hrane

**AU**

**Mentor(titula,ime,prezime, zvanje):**

Dr Sunčica Kocić-Tanackov, docent,  
Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u  
Novom Sadu

**MN**

Dr Đorđe Psodorov, redovni profesor u  
penziji, Prorodno-matematički fakultet,  
Univerzitet u Novom Sadu

**Naslov rada:**

Održivost pekarskog proizvoda sa povišenim  
sadržajem vlage sa dodatkom lekovitog i  
začinskog bilja

**NR**

**Jezik publikacije:**

Srpski, latinica

**JP**

**Jezik izvoda:**

Srpski/engleski

**JI**

**Zemlja publikovanja:**

Srbija

**ZP**

**Uže geografsko područje:**

Vojvodina

**UGP**

**Godina:** 2021  
**GO**  
**Izdavač:** Autorski reprint  
**IZ**  
**Mesto i adresa:** 21000 Novi Sad, Srbija, Bulevar Cara Lazara 1  
**MA**  
**Fizički opis rada:** Broj poglavlja:7/ Stranica:191/Tabela:40/  
**FO** Slika:59/ Literaturnih citata: 304  
**Naučna oblast:** Biotehničke nauke  
**NO**  
**Naučna disciplina:** Prehrambeno inženjerstvo  
**ND**  
**Predmetna odrednica, ključne reči:** Žitarice, brašna, pekarski proizvodi, testane  
**PO** kore, plesni, antifungalna aktivnost etarskih ulja, aktivnost vode, održivost  
**UDK**  
**Čuva se:** Biblioteka Tehnološkog fakulteta u Novom  
**ČU** Sadu, 21000 Novi Sad, Srbija, Bulevar Cara Lazara 1  
**Važna napomena:**  
**VN**

**Izvod:**  
**IZ**

Predmet doktorske disertacije obuhvata ispitivanje uticaja etarskih ulja lekovitih i začinskih biljaka (mente, kima i ruzmarina) na rast plesni izolovanih iz različitih žitarica i njihovih mlinskih proizvoda, kao i na mikrobiološku ispravnost i održivost testanih kora sa dodatkom 10% integralnog pšeničnog, heljdinog kukuruznog brašna.

Utvrđen je stepen kontaminacije plesnima pšenice, heljde i kukuruza, pšeničnog brašna tip 500, pšeničnog integralnog brašna, heljdinog integralnog brašna i kukuruznog integralnog brašna koja su korišćena za proizvodnju testanih kora. Iz uzoraka pšenice, kukuruza i heljde najčešće su izolovane plesni iz roda *Fusarium* (100%), zatim iz roda *Alternaria*, *Cladosporium* i *Penicillium* (67%) i roda *Aspergillus*, *Rhizopus* i *Scopulariopsis* (33%). Najveću rasprostranjenost u brašnima žitarica imao je rod *Penicillium* (100%), zatim *Aspergillus*, *Cladosporium* i *Fusarium* (75%). Najzastupljenija vrsta bila je *P. aurantiogriseum* (100%), zatim *C. cladosporioides* sa zastupljenošću od 75%.

Glavne komponente etarskog ulja mente bile su mentol, menton i mentil

acetat, kima karvon i limonen, a ruzmarina 1,8-cineol, kamfor,  $\alpha$ -pinen i  $\beta$ -pinen. Etarska ulja mente, kima i ruzmarina pokazala su antifungalnu aktivnost prema svim testiranim izolatima plesni (*Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium proliferatum*, *F. sporotrichioides*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. expansum* i *P. oxalicum*). Vrednosti MIC i MFC ukazale su da su etarska ulja mente i kima bila mnogo efikasnija u inhibiciji rasta plesni u odnosu na etarsko ulje ruzmarina.

Polazeći od osnovnog sirovinskog sastava testanih kora, deo pšeničnog brašna tip 500 zamenjen je integralnim pšeničnim heljdinim integralnim i kukuruznim brašnom u količini od 10%. Količine etarskih ulja za ispitivanje antifungalne zaštite testanih kora utvrđene su na osnovu dobijenih rezultata antifungalne aktivnosti etarskih ulja na odabrane vrste plesni za vrednosti 0,5 MIC, 1 MIC i 1,5 MIC. Testane kore su skladištene i ispitivane prema sledećoj dinamici: 0, 5, 7, 14 i 21 dan skladištenja na temperaturi od 8 °C. Ispitivanja testanih kora su obuhvatila mikološka, fizičko-hemijska i senzorska ispitivanja. Mikopopulacija uzoraka testanih kora od pšeničnog brašna tip 500 i testanih kora sa dodatkom pšeničnog integralnog, heljdinog integralnog i kukuruznog integralnog brašna, bez dodatka etarskog ulja, svrstana je u 5 rodova (*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* i *Rhizopus*) i 9 vrsta. Najčešće izolovani iz uzoraka testanih kora su rodovi *Cladosporium* i *Penicillium* koji su bili utvrđeni u svim uzorcima sa učestalošću od 100%. Najzastupljenije vrste sa 100% učestalosti pojavljivanja bile su *P. aurantiogriseum* i *C. cladosporioides*. Za sve uzorke testanih kora utvrđeno je da je etarsko ulje kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% nakon 14 dana skladištenja ispoljilo veoma dobra inhibitorna svojstva, što je rezultiralo smanjenjem ukupnog broja plesni i jednom izolovanom vrste *P. aurantiogriseum*. Rezultati deskriptivne metode senzorske ocene testanih kora pokazali su najveće razlike uočene u pogledu intenziteta i ujednačenosti boje. Uzorci testanih kora se zanačajno se razlikuju po aromi koja je najintenzivnija kod testanih kore sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna. Rezultati diskriminatornog testa potvrdili da postoje značajne razlike u intenzitetu mirisa testanih kora pri višim koncentracijama dodatog etarskog ulja. Najvećim razlikama je doprineo dodatak etarskog ulja ruzmarina, a najmanje kima. Minimalne prome mirisa utvrđene su kod testanih kora proizvedenih sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna. Fizičko-hemijska svojstva ( $a_w$  vrednost, količina vode, stepen kiselosti) uzoraka testanih kora su se menjala tokom skladištenja.

Na osnovu ciljeva doktorske disertacije, izvršenih ispitivanja i postignutih rezultata može se zaključiti da su ispitivana etarska ulja, kao i odabrane koncentracije doprineli produženju održivosti pekarskog proizvoda-testanih kora. Primenom etarskog ulja kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% moguće je

skladištiti testane kore u periodu do 14 dana pri temperaturi od 8°C, pri čemu su senzorski najprihvatljivije testane kore sa 10% pšeničnog integralnog brašna.

**Datum prihvatanja teme od strane** 12.07.2016.

**NN veća:**

**DP**

**Datum odbrane:**

**DO**

**Članovi komisije:**

**(ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status)**

**KO**

Dr Marija Jokanović, docent, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, predsednik

Dr Sunčica Kocić-Tanackov, docent, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, mentor

Dr Đorđe Psodorov, redovni profesor u penziji, Prorodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, mentor

Dr Dragana Šoronja-Simović, vanredni profesor, Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, član

Dr Ljubiša Šarić, naučni saradnik, Naučni institut za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, Univerzitet u Novom Sadu, član

**UNIVERSITY OF NOVI SAD**  
**FACULTY OF TECHNOLOGY, NOVI SAD**

**KEY WORD DOCUMENTATION**

---

**Accession number:**

ANO

**Identification number:**

INO

**Document type:**

Monographic documentation

DT

**Type of record:**

Textual printed material

TR

**Contents code:**

PhD Thesis

CC

**Author:**

Dragana Plavšić, Bsc technology,

AU

Specialist of Food Microbiology

**Menthor:**

Sunčica Kocić-Tanackov, PhD, assistant  
profesor, Faculty of Technology, University of  
Novi Sad

MN

Đorđe Psodorov, PhD, Full Profesor (retired),  
Faculty of Science, University of Novi Sad

**Title:**

Sustainability of bakery products with high  
moisture content with the addition of  
medicinal and spicy herbs

TI

**Language of text:**

Serbian (Roman)

LT

**Language of abstract:**

Serbian (Roman)/English

LA

**Country of publication:**

Serbia

CP

**Locality of publication:**

Vojvodina

LP

**Publication year:** 2021  
**PY**  
**Publisher:** Author's reprint  
**PU**  
**Publication place:** 21000 Novi Sad, Serbia, Bulevar Cara Lazara 1  
**PP**  
**Physical description:** Chapter:7/pages:191/tables:40/figure:59/references: 304  
**PD**  
**Scientific field:** Biotechnical sciences  
**SF**  
**Scientific discipline:** Food engineering  
**SD**  
**Subject, Key words:** cereal, flours, bakery products, phylo pastri, molds, antifungal activity of essential oils, water activity, sustainability  
**SKW**  
**UC**  
**Holding data:** Faculty of Technology Library, Novi Sad, 21000 Novi Sad, Serbia, Bulevar Cara Lazara 1  
**HD**  
**Note:**  
**N**  
**Abstract:**  
**AB**

The subject of the doctoral thesis contains research of the influence of medicinal and spice plants essential oils to the growth of molds isolated from various cereals and flours, the development of phyllo dough with the addition of examining cereal flour and essential oils, also as microbiological research of dough stability.

Degree of mold contamination of wheat, buckwheat and corn, wheat flour T-500, whole grain wheat flour, whole grain buckwheat flour and whole grain corn flour, which are used for phyllo dough production was determined. From the samples of wheat, corn and buckwheat the most frequent isolated molds were from the genus *Fusarium* (100%), followed by *Alternaria*, *Cladosporium* and *Penicillium* (67%) and *Aspergillus*, *Rhizopus* and *Scopulariopsis* (33%). *Penicillium* (100%), *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Fusarium* (75%), have shown the largest distribution in cereal flours. The most frequent species were *P. aurantiogriseum* (100%), and *C. cladosporioides* with the frequency of 75%.

The major components of mint essential oils were mint, menthone and menthyl acetate. The major components of caraway essential oils were carvone and limonene. The major components of rosemary essential oils were 1,8-cineole, camphor,  $\alpha$ -pinene and  $\beta$ -pinene. Essential oil of mint, caraway and rosemary have shown antifungal activity towards all tested isolates (*Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium proliferatum*, *F. sporotrichioides*,

*Penicillium aurantiogriseum*, *P. expansum*, and *P. oxalicum*). MIC and MFC values have indicated that essential mint and caraway oils were much efficient in mold growth inhibition in comparison to rosemary essential oil.

Starting with the basic ingredients content of phyllo dough, the part of wheat flour T-500 was replaced with whole grain wheat flour, whole grain buckwheat flour, and whole grain corn flour in quantity of 10%. Essential oil quantities for research of phyllo dough antifungal protection were determined on the basis of essential oil antifungal activities results of selected species for the values 0,5 MIC, 1 MIC and 1,5 MIC. Phyllo doughs were stored and researched by the following dynamics: 0, 5, 7, 14 and 21 day of storing at 8°C. Researches of phyllo dough were contained: mycological researches, physico-chemical and sensory researches. Mycopopulation of the phyllo dough samples with wheat flour T-500 and phyllo dough with the addition of whole grain wheat flour, whole grain buckwheat flour and whole grain corn flour, without the addition of essential oil, was classified into 5 genera (*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* and *Rhizopus*) and 9 species. Among phyllo dough samples, the most frequent isolated genera *Cladosporium* and *Penicillium* were detected in all samples with the frequency of 100%. Most represented species with the appearance frequency of 100% were *P. aurantiogriseum* and *C. Cladosporioides*. For the all samples of phyllo dough was determined that caraway essential oil concentrations of 0,17% and 0,255% after 14 days of storing have shown very good inhibitory abilities, which resulted with decrease of the total number of molds and one isolated species *P. aurantiogriseum*. Results of descriptive method of phyllo dough sensorial analyses have shown the biggest differences, spotted in the intensity and color uniformity of phyllo dough. Samples of phyllo dough were significantly different in cereal aroma, whereas, the phyllo dough with the addition of 10% whole grain wheat was with the most intense aroma. Results of discriminatory tests have shown that the differences in the aroma intensity were significant in higher concentration of added essential oil. The addition of rosemary essential oil has affected the highest differences, while the caraway essential oil has affected the lowest differences. The lowest aroma intensity variations were determined in phyllo dough with the addition of 10% whole grain wheat flour. Physico-chemical abilities ( $a_w$  value, moisture content, acid number) of the phyllo dough samples have changed during the storing period.

On the basis of doctoral thesis aims, conducted research and obtained results, it could be concluded that examined essential oils, also as selected concentrations, were contributed to the shelf life prolongation of the bakery products – phyllo dough pastry. By application of caraway essential oil in concentrations of 0,17% and 0,255% it's possible to store phyllo dough pastry up to 14 days at the temperature of 8°C, whereas, by following sensory characteristics the most acceptable phyllo dough pastry were with the addition of 10% whole grain wheat flour.



**Accepted on Senate on:**

12.07.2016.

**AS**

**Defended:**

**DE**

**Thesis Defend Board:**

**DB**

Marija Jokanović, PhD, Assistant profesor,  
Faculty of Technology, University of Novi Sad,  
president

Sunčica Kocić-Tanackov, PhD, Assistant  
profesor, Faculty of Technology, University of  
Novi Sad, mentor

Đorđe Psodorov, PhD, Full Profesor (retired),  
Faculty of Science, University of Novi Sad,  
mentor

Dragana Šoronja-Simović, PhD, Associate  
Profesor, Faculty of Technology, University of  
Novi Sad, member

Ljubiša Šarić, PhD, Research Associate,  
Institute of Food Technology Novi Sad, Novi  
Sad, member

## **Zahvalnica**

*Ova doktorska disertacija urađena je u okviru projekta TR 31029 „Funkcionalni proizvodi na bazi žita namenjeni osobama sa metaboličkim poremećajima“ Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.*

*Na ovom mestu želela bih da se zahvalim:*

- ~ Svom mentoru Dr Sunčici Kocić – Tanackov na nesebičnom angažovanju, ukazanom poverenju, podršci i prijateljskim savetima tokom izrade doktorske disertacije*
- ~ Svom mentoru Dr Đorđu Psodorov na nesebično prenetom znanju, neizmernoj pomoći, podršci i prijateljskim savetima tokom izrade doktorske disertacije*
- ~ Članovima komisije Prof. dr Dragani Šoronja – Simović, doc. dr Mariji Jokanović i Dr Ljubiši Šarić na dobronamernim i korisnim sugestijama i komentarima*
- ~ Dr Anamariji Mandić na ohrabrujućim savetima i optimističnom pristupu tokom izrade doktorske disertacije*
- ~ Dr Dubravki Škrobot i njenim panelistima na pomoći u realizaciji senzorske ocene testanih kora*
- ~ Dr Ivanu Milovanoviću na pomoći u delu eksperimentalnog rada*
- ~ Dr Lati Pezo na nesebičnom angažovanju i prijateljskoj pomoći u realizaciji obrade podataka*
- ~ Dr Draganu Psodorov na neizmernoj pomoći u toku izrade testanih kora, nesebičnoj podršci i prijateljskim savetima tokom izrade doktorske disertacije*
- ~ Draganu Stanimiroviću na podršci i pomoći u realizaciji proizvodnje testanih kora*
- ~ Svom Institutu i odeljenju mikrobiologije na podršci i razumevanju, posebno Jeleni Bošnjak na tehničkoj podršci tokom izrade doktorske disertacije*

*Na kraju bih želela da se zahvalim onima bez kojih sve ovo ne bi imalo smisla, mojoj porodici, suprugu Jovici i našoj deci Jovani i Igoru, na neizmernoj podršci, razumevanju i ljubavi, kojima i posvećujem ovu disertaciju.*

*Autor*

## LISTA SKRAĆENICA

DG18	Dihloran 18% glicerol agar
MY50G	Sladni ekstrakt sa ekstraktom kvasca 50% glukoza agar
CYA	Czapek agar
MEA	Sladni ekstrakt agar
PDA	Krompir dekstrozni agar
SDA	Sabouraud dekstrozni agar
SDB	Sabouraud dekstrozni bujon
GC/MS	Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom
MIC	Minimalna inhibitorna koncentracija
MFC	Minimalna fungicidna koncentracija
$a_w$	Aktivnost vode
KS	Kiselinski stepen
PBB	Testane kore od pšeničnog belog brašna Tip 500
PIB	Testane kore sa 10% pšeničnog integralnog brašna
HIB	Testane kore sa 10% heljdinog integralnog brašna
KIB	Testane kore sa 10% kukuruznog integralnog brašna
ANOVA	Analysis of Variance
cfu/g	Broj formiranih kolonija po gramu (eng. Colony forming unit per gram)
Kontrola	Testane kore bez dodatka etarskog ulja
0,085% M	Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%
0,17% M	Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%
0,255% M	Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%
0,085% K	Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%
0,17% K	Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%
0,255% K	Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%
0,71% R	Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%
1,42% R	Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%
2,13% R	Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

# SADRŽAJ

<b>1.Uvod</b>	<b>1</b>
<b>2. Pregled literature</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Žita i proizvodi od žita u ishrani</b>	<b>3</b>
2.1.1. Pšenica	4
2.1.2. Kukuruz	7
2.1.3. Heljda	10
2.1.4. Uloga žita u proizvodnji funkcionalne hrane	12
2.1.5. Pekarski proizvod–testane kore	15
<b>2.2. Mikroorganizmi žita, mlinskih i pekarskih proizvoda</b>	<b>17</b>
2.2.1. Plesni i mikotoksini	19
2.2.2. Faktori rasta plesni i biosinteze mikotoksina	22
<b>2.3. Etarska ulja lekovitih i začinskih biljaka u kontroli rasta plesni</b>	<b>25</b>
<b>2.4. Senzorska ocena hrane</b>	<b>34</b>
<b>3. Cilj rada</b>	<b>35</b>
<b>4. Materijal i metode rada</b>	<b>37</b>
<b>4.1. Materijal</b>	<b>37</b>
4.1.1. Eksperimentalni uzorci	37
4.1.2. Proizvodnja testanih kora	37
4.1.3. Mikološke podloge i hemikalije	41
<b>4.2. Metode</b>	<b>41</b>
4.2.1. Mikološke metode	41
4.2.1.1. Izolovanje i određivanje ukupnog broja plesni	41
4.2.1.2. Identifikacija plesni	42
4.2.2. Ispitivanje antifungalne aktivnosti etarskih ulja lekovitih i začinskih	43

biljaka	
4.2.2.1. Kulture plesni	43
4.2.2.2. Priprema suspenzija konidija plesni	43
4.2.2.3. Bujon mikrodiluciona metoda	43
4.2.3. Hemijske metode	45
4.2.3.1. Određivanje hemijskog sastava etarskih ulja	45
4.2.3.2. Određivanje aw vrednosti	45
4.2.3.3. Određivanje sadržaja vlage i kiselinskog stepena testanih kora	46
4.2.5. Senzorska ocena testanih kora	46
4.2.5.1. Priprema, prezentacija i distribucija uzoraka članovima panela	46
4.2.5.2. Senzorska analiza testanih kora - deskriptivna metoda	47
4.2.5.3. Određivanje mirisa testanih kora – test trougla	48
4.2.6. Statistička analiza	49
4.2.6.1. Statistička obrada podataka mikoloških i fizičko-hemijskih ispitivanja	49
4.2.6.2. Statistička obrada podataka senzorske ocene testanih kora	49
<b>5. Rezultati i diskusija</b>	<b>51</b>
<b>5.1. Ukupan broj plesni žita i brašna od žita</b>	<b>51</b>
<b>5.2. Mikopopulacije žita i brašna od žita</b>	<b>56</b>
5.2.1. Mikopopulacija žita	56
5.2.2. Mikopopulacija uzoraka brašna	61
<b>5.3. Hemijski sastav etarskih ulja</b>	<b>73</b>
<b>5.4. MIC i MFC etarskih ulja za ispitivane plesni</b>	<b>80</b>
<b>5.5. Uticaj dodatka etarskih ulja lekovitih i začinskih biljaka u antifungalnoj zaštiti testanih kora</b>	<b>92</b>
5.5.1. Ukupan broj plesni testanih kora	92
5.5.3. Distribucija plesni u kontrolnim uzorcima testanih kora	131
5.5.4. Osnovni parametri kvaliteta	135
5.5.4.1. Vrednosti aktivnosti vode (aw) ispitivanih testanih kora	135
5.5.5. Senzorska ocena testanih kora sa dodatkom etarskih ulja lekovitih i začinskih biljaka	139

5.5.5.1. Senzorska ocena testanih kora primenom deskriptivne senzorske analize i diskriminatornog testa trougla	139
<b>6. Zaključak</b>	<b>143</b>
<b>7. Literatura</b>	<b>148</b>
<b>PRILOG</b>	<b>178</b>
<b>Plan tretmana podataka</b>	<b>184</b>

## 1.Uvod

Žita predstavljaju jednu od najznačajnijih grupa poljoprivrednih proizvoda koja se koriste u ishrani ljudi od davnina. Bogata su ugljenim hidratima, proteinima, mineralima, vitaminima i drugim hranljivim materijama i odlikuju se visokom nutritivnom vrednošću. Biološki aktivna jedinjenja koja su prisutna u zrnima žita imaju izuzetnu važnost u normalnom odvijanju metabolizma u organizmu čoveka. Celo zrno žita je odličan izvor prehrambenih vlakana, koja zahvaljujući svojim fizičko-hemijskim karakteristikama imaju važnu ulogu u održavanju zdravlja i prevenciji bolesti. Zbog pomenutih pozitivnih efekata na zdravlje prehrambena vlakna su prepoznata kao važan sastojak pravilne ishrane.

Strateški pravci razvoja u oblasti hrane i ishrane usmereni su ka proizvodnji novih i unapređenih prehrambenih proizvoda. Koncept proizvodnje funkcionalne hrane sa povišenim sadržajem nutrijenata iz prirodnih izvora u odnosu hranu obogaćenu sintetičkim komponentama predstavlja ključni interes nutricionista, lekara i proizvođača hrane. Način života utiče na stvaranje posebnih zahteva potrošača, što ima uticaja na formiranje tržišta i asortimana proizvoda. S druge strane, prehrambene navike potrošača sve su više ograničene pojavom različitih metaboličkih poremećaja. Dosadašnja istraživanja vezana za razvoj pekarskih i konditorskih proizvoda usmerena su ka supstituciji dela belog pšeničnog brašna pšeničnim integralnim brašnom, ili nekim drugim žitima, u cilju dobijanja novih zdravstveno efikasnih proizvoda. Proizvodi od celog zrna žita predstavljaju bolje izvore funkcionalnih sastojaka i ukoliko se konzumiraju kao deo svakodnevne ishrane mogu imati višestruko povoljan uticaj na zdravlje. Boljim poznavanjem određenih zdravstvenih benefita različitih mlinskih proizvoda žita sa akcentom na integralne proizvode, kao i mogućnosti njihove upotrebe, prehrambena industrija stvorila je širok asortiman novih pekarskih proizvoda.

Međutim, pored zdravstvenih benefita važna je i zdravstvena bezbednost proizvoda. Kvalitet i bezbednost gotovih proizvoda direktno zavise od kvaliteta i bezbednost sirovina. Neoštećena zrna žita imaju svoju prirodnu zaštitu, dok su njihovi mleveni i prekrupljeni proizvodi potpuno izloženi potencijalnoj aktivnosti pre svega onih mikroorganizama koji su sposobni da rastu pri uslovima smanjenog sadržaja vlage u supstratu. U ovu grupu mikroorganizama se ubrajaju plesni kao primarni uzročnici kvarenja srednje i niskovlažnih proizvoda. Mikroskopskim ispitivanjem strukture zrna utvrđeno je da kontaminacija zrna počinje u pukotinama omotača zrna, a naročito u predelu klice jer je tu najslabiji zaštitni sloj. Plesnivost zahvata aleuronski sloj i sloj susednih ćelija skroba. Pored toga, plesni su odgovorne za formiranje neprijatnog mirisa i proizvodnju veoma toksičnih sekundarnih metabolita - mikotoksina i alergeni jedinjenja. Veliki broj istraživanja u svetu i kod nas ukazuje na prisustvo toksigenih mikopopulacija u skoro svim sirovinama biljnog porekla i prisustvo mikotoksina u mnogim prehrambenim proizvodima.

S obzirom da plesnivost pekarskih proizvoda može predstavljati ozbiljan problem kod pekarskih proizvoda povećanog sadržaja vlage neohodna je upotreba konzervanasa. Međutim, potrošači danas zahtevaju hranu bez upotrebe sintetičkih konzervanasa. Iz navedenih razloga, poslednjih godina je povećana zainteresovanost za istraživanjima u vezi mogućnosti primene lekovitog i začinskog bilja, njihovih etarskih ulja i ekstrakata u zaštiti hrane od mikrobiološkog kvarenja. Za antibakterijsko i antifungalno delovanje lekovitih i začinskih biljaka odgovorne su njihove aktivne komponente koje su sastavni deo etarskih ulja i ekstrakata. Primenom etarskih ulja i ekstrakata kao dodaka, u površinskoj zaštiti ili pakovanju proizvoda u modifikovanoj atmosferi moguće je ograničiti ili sprečiti razvoj štetnih plesni u hrani.

Na osnovu svega gore navedenog postoji opravdana potreba da se ispita uticaj etarskih ulja lekovitih i začinskih biljaka na rast plesni izolovanih iz žita i brašna od žita kao i njihova upotreba u cilju održivosti pekarskog proizvoda povišene vlage.



## 2. Pregled literature

### 2.1. Žita i proizvodi od žita u ishrani

Žita i proizvodi na bazi žita od davnina zauzimaju značajno mesto u ishrani ljudske populacije. Pod žitima se podrazumevaju kultivisane biljke, odnosno zreli plodovi žita koji po svojim botaničkim osobinama pripadaju porodici trava *Gramineae* i sledećim vrstama: pšenica (*Triticum*), raž (*Secale*), ječam (*Hordeum*), ovas (*Avena*), kukuruz (*Zea mays*), proso (*Panicum*), sirak (*Sorghum*), pirinač (*Oriza*) i heljda (*Fagopyrum*). Prema svojoj nameni za ishranu, žita se dele na hlebna žita i žita za ostale namene. Značaj žita u ishrani ljudi uslovljen je činjenicom da su žita glavni izvor energije, pre svega zbog visokog sadržaja ugljenih hidrata, posebno skroba. Pored skroba, prisutne su i značajne količine proteina, celuloze, vitamina B grupe, minerala, i neznatne količine masti. Najzastupljenije žita u ishrani ljudi su pšenica, pirinač i kukuruz, dok su ovas, ječam, raž, tritikale, proso i pseudožitarice (heljda i sirak) nešto manje zastupljene **(Stojanović i Psodorov, 2007)**.

Zrna žita predstavljaju zrele plodove koji se sastoje od tri anatomska dela koja se međusobno bitno razlikuju, kako u pogledu strukture, tako i u pogledu njihovog hemijskog sastava. To su skrobni endosperm, omotač (uključujući i aleuronski sloj) i klica. Skrobni endosperm čini 75-80% mase zrna, dok udeo klice i omotača u ukupnoj masi zrna varira među različitim žitaricama i sortama (Tabela 2.1) **(Stojanović i Psodorov, 2007)**.

Mlevenje je osnovni tehnološki postupak prerade žita. U tehnološkom postupku mlevenja kao sirovina se koristi celo zrno. Mlevenje je sukcesivno selektivan postupak usitnjavanja zrna. Sukcesivan znači da se zrno usitjava postepeno u više navrata, a selektivan da se različito usitnjavaju pojedini anatomske delovi zrna. Proizvodi mlevenja su brašno, krupica, mekinje i primese koje se izdvajaju u toku pripreme. Brašno je osnovna

sirovina za dalju preradu. U nekim zemljama sa ovim proizvodima se unosi više od 60% ukupne energije (Žeželj, 1995; Stojanović i Psodorov, 2007; Psodorov i Psodorov, 2014).

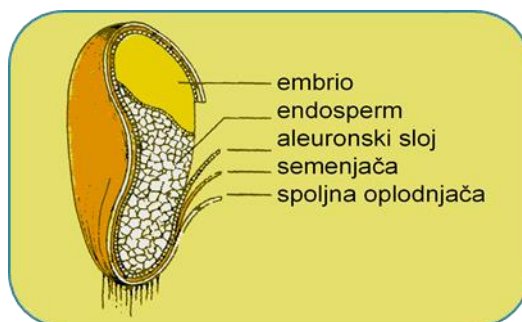
**Tabela 2.1.** Sastav pojedinih delova zrna (%) (Stojanović i Psodorov, 2007)

Sastav pojedinih delova zrna						
	Voda	Proteini	Mineralne materije	Masti	Skrob	Celuloza pentozani, rastvorljivi šećeri
Drvenasta oplodnjača	15	10	7	0	0	68
Klica (embrio)	15	33	5	12	0	35
Aleuronski sloj	15	25	10	8	0	42
Endosperm	15	10	0,5	1,5	70	3

U daljem pregledu akcenat je stavljen na pšenicu, kukuruz i heljdu, s bzirom da su brašna pomenutih žitarica korišćena za proizvodnju testanih kora koje su predmet ispitivanja.

### 2.1.1. Pšenica

Pšenica (*Triticum*) je jednogodišnja biljka poreklom iz Azije i Južne Evrope odakle je proizvodnja proširena na druge kontinente. Ona je jedna od najstarijih kultivisanih biljaka, koja se uzgaja u velikim količinama u raznim delovima sveta za proizvodnju najvažnijeg i najkvalitetnijeg brašna za ljudsku ishranu. Pšenično zrno sastoji se iz tri osnovna anatomski dela: omotača (ljuske), endosperma i klice (Stojanović i Psodorov, 2007) (Slika 2.1).



**Slika 2.1.** Građa zrna pšenice (Stojanović i Psodorov, 2007)

Hemijski sastav zrna pšenice varira i u proseku ima 10-14% vode, oko 70% ugljenih hidrata, oko 11% sirovih proteina, celuloze oko 3%, masti oko 1,75% i oko 1,7% mineralnih materija **(Ljubisavljević, 1999)**.

Pšenica se smatra osnovnom i najznačajnijom mlinskom sirovinom. Od velikog broja vrsta pšenica, samo su tri vrste našle širu primenu, a to su *Triticum vulgare* ili *Triticum aestivum*, *Triticum durum* i *Triticum turgidum*. Na osnovu tvrdoće zrna sve pšenice se mogu podeliti na tvrde i meke. Tvrda pšenica se gaji u ograničenim količinama, pa se najznačajnijom mlinskom sirovinom može smatrati meka pšenica, koja se gaji kao ozima i jara forma. Tvrdoća zrna je uslovljena sortnim poreklom i veoma je važna sa aspekta kvaliteta pšenice i njene pogodnosti za preradu. Najpouzdaniji pokazatelj tvrdoće zrna je meljivost, odnosno. količina i kvalitet brašna koje se dobija postupkom mlevenja. Tvrdoća zrna je u direktnoj korelaciji sa sadržajem i kvalitetom proteinima. Tvrda pšenica sadrži više proteinske, a manje skrobne frakcije u odnosu na meku pšenicu **(Stojanović i Psodorov, 2007)**.

*Triticum vulgare* ili *Triticum aestivum* je najrasprostranjenija vrsta pšenice. Karakteriše je manji sadržaj proteina i mekano zrno, brašnaste strukture na preseku. Brašna ovih pšenica koriste se za proizvodnju hleba i drugih pekarskih proizvoda. *Triticum durum* ima staklasto jezgro, veći procenat proteina i glutena. Zrno ovih pšenica je tvrdo, duguljasto, na poprečnom preseku trouglasto, staklaste je strukture i sa izraženom brazdicom. Koriste se u proizvodnji testenina **(Stojanović i Psodorov, 2007)**.

*Triticum turgidum* poznata je i kao engleska pšenica ili belija. Spada u grupu brašnavih krupno zrnih pšenica. Gaji se uglavnom u toplim krajevima, kao što su Severna Afrika i Mediteran **(Stojanović i Psodorov, 2007)**.

Najznačajniji pravac u preradi pšenice jeste mlevenje. Nakon postupka siloskog i mlinskog čišćenja, koje podrazumeva uklanjanje slame, strnih zrna žita i urodica, pšenično zrno se odvodi na mlevenje. Od postupka mlevenja pšenice zavisi efekat sejanja i razvrstavanja proizvoda mlevenja. Ovim postupkom se teži da se sastavni delovi zrna što bolje odvoje i da se zrno usitni do željene granulacije. Pravilnom pripremom zrna za

mlevenje ostvaruje se efikasno razdvajanje pojedinih anatomskih delova, zahvaljujući njihovim različitim mehaničkim osobinama **(Psodorov i Psodorov, 2014)**.

Zadatak mlevenja je dvojak. Prvo da se razdvoje anatomski delovi zrna u što čistijem obliku i drugo da se zrno usitni do takve finoće koja će imati najbolju upotrebnu vrednost. Proces mlevenja se odvija u tri faze, a to su: krupljenje, rastvaranje krupice i okrajaka i izmeljavanje. Krupljenje je prva operacija u postupku usitnjavanja koja ima za cilj da otvori zrno i pri tome efikasno izdvoji endosperm i klicu od mekinjastih čestica. Postupkom rastvaranja potrebno je odvojiti zaostale mekinjaste čestice od endosperma kako bi se dobila što čistija krupica. Postupak izmeljavanja predstavlja završnu fazu u procesu usitnjavanja. Cilj ovog postupka jeste da se čestice krupice i osevaka usitne do veličine brašna koje će imati zadovoljavajući tehnološki kvalitet. To se ostvaruje postepenim usitnjavanjem pri čemu se vodi računa da ne dođe do oštećenja skrobnih granula. U postupku izmeljavanja uglavnom postoji 6-8 prolazišta, što zavisi od zahtevanog izbrašnjavanja. Nakon usitnjavanja u postupku izmeljavanja mlevni materijal se na osnovu granulacionog sastava može klasifikovati u tri grupe: prelaze (sastavljene od čestica omotača), propade (sastavljen od usitnjenog endosperma) i brašna. Izbrašnjavanje se može definisati kao odnos količine brašna dobijenog sejanjem u odnosu na ukupnu količinu mliva **(Stojanović i Psodorov, 2007)**.

Najznačajniji proizvod procesa mlevenja pšenice predstavljaju pasažna brašna. Pasažna brašna razlikuju se međusobno po sastavu, kvalitetu, veličini čestica, obliku, što ustvari ima veze iz kog dela zrna potiču. Neka pasažna brašna poreklom su isključivo iz skrobnog dela endosperma, za razliku od drugih, koji pored usitnjenih čestica endosperma sadrže i usitnjene čestice aleuronskog sloja, klice i omotača pšenice. Udeo čestica omotača pšenice je veoma mali kod pasaža rastvaranja i prvih izmeljavanja. Međutim, kod zadnjih izmeljavanja i zadnjih krupljenja udeo čestica omotača nekad prelazi 25%. Pasažana brašna dobijaju se kao propadi kroz brašnena tkiva od broja 8 do 10, a to odgovara maksimalnim veličinama čestica u intervalu od 130 do 180  $\mu\text{m}$  **(Žeželj, 1995)**.

Finalni proizvodi procesa mlevenja pšenice su: tipska i namenska brašna, obogaćena brašna, stočno brašno i mekinje. Tipska i namenska brašna su proizvodi mlevenja pšenice kod kojih su sadržaj mineralnih materija i kiselinski stepen tačno definisani. Mešanjem i

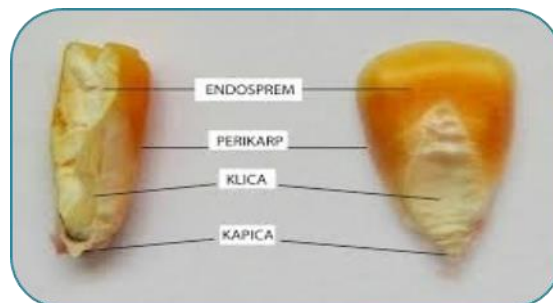
homogenizacijom pasażnih brašna dobijaju se tipska brašna. Tipizacija pšeničnih brašna vrši se prema sadržaju mineralnih materija. Mineralne materije uglavnom se nalaze u perifernim delovima zrna (ljuska i aleuronski sloj), s hodno tome se na osnovu količine mineralnih materija u brašnu određuje učešće perifernih delova zrna. Na osnovu sadržaja mineralnih materija brašna se svrstavaju u bela, polubela i crna brašna **(Žeželj, 1995)**.

Bela pšenična brašna potiču iz središnjih delova zrna. Uglavnom se proizvode dva tipa belog brašna i to tip 400, sa sadržajem mineralnih materija do 0,45% i tip 500 sa sadržajem mineralnih materija od 0,46 do 0,60%. Polubela brašna tip 700 i tip 850 imaju sadržaj mineralnih materija 0,61 i 1,0%. Ova brašna potiču iz centralnih delova zrna, ali su u njima prisutni i usitnjeni delovi omotača i aleuronskog sloja. Polubela brašna karakteriše veći sadržaj proteina i glutena, veći sadržaj masti i vitamina i drugih materija koje su prisutne u omotaču i aleuronskom sloju. Crna brašna tip 1100 su brašna sa visokim sadržajem mineralnih materija, koji se kreće od 1,05 do 1,15%, a samim tim i sa značajnim udelom perifernih delova zrna koji ovim brašnima i daju tamnu boju. **(Žeželj, 1995, Službeni glasnik, 2018)**.

### 2.1.2. Kukuruz

Kukuruz (*Zea mays*) je jednogodišnja biljka poreklom iz Amerike, danas je zastupljen na svim kontinentima. Kukuruz kao kultura u prvom redu se gaji radi proizvodnje zrna.

Kukuruzna zrna nalaze se na klipu poređana u uzdužne redove. Na osnovu oblika i strukture zrna izvršena je klasifikacija po grupama na: kukuruz zuban, tvrdunac, šećerac, kokičar, mekunac, voštani kukuruz, pljevičar, poluzuban i skrobni šećerac. Zrno kukuruza sastoji se iz osnovnih delova: omotača, endosperma, klice i donjeg dela ili baze, koja predstavlja tačku pričvršćivanja za oklasak (Slika 2.2) **(Jeftić, 1986; Jeftić i sar., 1986)**.



**Slika 2.2.** Građa zrna kukuruza (<https://www.savjetodavna.hr/>)

Omotač ili perikarp obavija plod i zaštićuje unutrašnje delove zrna. Debljina perikarpa je različita i zavisno od sorte kukuruza iznosi od 30–40  $\mu\text{m}$  pa i preko 200. Omotač zrna zastupljen je sa 16-19% i završava se aleuronskim slojem, koji se izdvaja sa zajedno sa omotačem u postupku prerade. U ćelijama omotača nalaze se pigmenti koji mu daju boju, pa omotač može biti crven, prošaran raznim nijansama crvene, narandžaste, čokoladne i bele boje. Perikarp se lako skida iz nakvašenog semena. Endosperm zrna kukuruza čini 76%, a može biti brašnave ili staklaste strukture. Odnos staklavog i brašnavog endosperma se razlikuje kod različitih vrsta kukuruza. Brašnavi endosperm se nalazi između klice i staklavog endosperma, rastresite strukture i mehanički neotporniji. Staklavi endosperm uglavnom se nalazi na boku zrna, između omotača i klice, sadrži više proteina od brašnavog i ima gušće pakovanje skrobnih zrna. Klica čini 8-11% mase zrna, krupna je i sadrži visok procenat masti. Za klicu je karakterističan i visok sadržaj proteina, šećera, mineralnih materija, vitamina i enzima (Stojanović i Psodorov, 2007).

U zrnu kukuruza nalaze se skoro sve neophodne hranljive materije u lako usvojivom obliku. Među njima su glavni ugljeni hidrati, proteini i masti, organska jedinjenja koja čine 95% mase suve materije zrna. Sadržaj ugljenih hidrata, proteina i masti zavisi od sortnih karakteristika kukuruza, što određuje njegovu hranljivu vrednost i način iskorišćavanja. Zrno kukuruza u proseku sadrži 14% vode, 69,5% ugljenih hidrata, oko 10% proteina, oko 4,8% ulja i oko 1,4% mineralnih sastojaka (Ljubisavljević, 1999).

Osnovni i najznačajniji pravac u preradi i korišćenju kukuruza jeste stočna hrana. Međutim, u poslednje vreme sve više kukuruza se prerađuje u visokovredne prehrambene i farmaceutske proizvode.

Suvom preradom kukuruza dobija se niz proizvoda koji imaju različite namene u proizvodnji hrane. Postupak prerade je veoma složen i zahteva pažljivo vođenje kako bi se anatomske delove zrna što bolje razdvojili. Suva prerada kukuruza odvija se u četiri faze i to: priprema zrna za mlevenje, isključavanje, razvrstavanje i usitnjavanje mliva i mešanje, pakovanje i isporuka gotovih proizvoda (**Žeželj, 1995**).

Priprema zrna kukuruza za mlevenje ima za cilj da se zrno oslobodi svih stranih primesa i da se struktura zrna dovede u stanje najpogodnije za preradu. Prvi deo pripreme je odstranjivanje primesa, a drugi deo je hidrotermička obrada. Pored toga, ponekad se vrši i površinska obrada kako bi se zrno oslobodilo nečistoće (**Žeželj, 1995**).

Najznačajnija faza u preradi kukuruza je odstranjivanje klice ili isključavanje. Isključavanjem se ostali deo zrna oslobađa masnih materija koje su vrlo štetne u proizvodima mlevenja. Međutim, zbog nesavršenosti postupka samo se jedan deo anatomske čistih delova odvaja, dok se drugi deo, koji predstavlja mešavinu anatomske delova, dalje prerađuje. Mliva se posle isključavanja suši na posebnim uređajima za sušenje, a deo vlage se uklanja toplim vazduhom. Posebnu pažnju treba obratiti na frakciju u kojoj su sadržani klica i omotač, jer je ta frakcija inače znatno vlažnija. Osušeni materijal na situ se razvrstava u tri frakcije. Prvu frakciju čine krupne čestice, veličine iznad 8 mm. Ovakve čestice se vraćaju ponovo na isključavanje jer se one uglavnom sastoje od celog zrna kukuruza. Drugu frakciju čine čestice srednje veličine promera 3 do 8 mm. U ovoj frakciji su sadržane čestice endosperma, klice i omotača. One se razdvajaju na posebnom odeljenju sita na dve podfrakcije. Prvu podfrakciju čine čestice veličine 5 do 8 mm, a drugu čestice od 3 do 5 mm. Krupnije čestice još uvek sadrže veliki deo omotača koji se izdvaja sistemom vazdušnih separatora. Frakcija sa česticama ispod 3 mm se preko vazdušnog kanala odvodi na poseban vibropneumatski sto gde se separaciona smeša razdvaja na tri ili četiri frakcije. Jednu frakciju čine krupne čestice čistog endosperma koje se vode na usitnjavanje, drugu čestice endosperma i klice koje se po drugi put razvrstavaju, frakcija kukuruzne krupice koja se odvodi na mlevenje i frakcija klice koja se suši i prerađuje. Kukuruzna krupica se usitnjava na sistemu valjaka i sita kojih ima četiri do šest, u zavisnosti kakav se granulacioni sastav krupice i brašna želi postići. Da bi se krupica oslobodila zaostalih delova klice i

omotača podvrgava se čišćenju na čistilicama krupice. Očišćenja krupica se dalje sitni **(Žeželj, 1995)**.

Kukuruzna krupica potiče od rožnatog dela endosperma. Konzumna kukuruzna krupica se koristi za proizvodnju različitih pekarskih proizvoda. Kukuruzno brašno u jednostavnijem procesu mlevenja potiče najvećim delom od brašnog dela endosperma. Proteini kukuruznog brašna znatno se razlikuju od pšeničnog. Kukuruzno brašno ne sadrži gluten. Ovo brašno ima jedan specifičan protein, zein, koji nema povoljna reološka svojstva i stvara probleme prilikom obrade testa. Kukuruzno brašno bogato je mastima, pa je s jedne strane energetski veoma bogato, ali s druge strane teže se čuva i lakše podleže oksidativnim procesima koji dovode do stvaranja karakterističnog nepoželjnog užeglog mirisa i ukusa. U savremenim mlinovima sa razvijenim postupkom usitnjavanja i razdvajanja proizvodi se kukuruzno brašno koje potiče iz oba dela endosperma, staklavog i brašnavog. **(Žeželj, 1995; Psodorov i Vukić, 2010)**.

### 2.1.3. Heljda

Heljda pripada familiji *Polygonaceae*. Postoje mnoge vrste heljde, od kojih devet vrsta ima poljoprivredni značaj. Za ljudsku ishranu se gaje dve vrste: *Fagopyrum esculentum*-obična heljda i *Fagopyrum tataricum*-tatarska heljda. Heljda je tradicionalni usev poreklom iz Kine. Jednogodišnja je zeljasta biljka, visine do 1,5 m. Listovi heljde su srcoliki i zašiljeni, cvetovi su mali, bele do ružičaste boje. Karakterističnog je mirisa koji privlači pčele u vreme cvetanja. Heljda uspeva na različitim zemljištima zahvaljujući dobroj adaptibilnosti na uslove okoline. Prisutna je na svim kontinentima, ali uglavnom raste na severnoj hemisferi. U Srbiji se uglavnom gaji u brdsko-planinskim područjima, a poznati kraj po proizvodnji heljde je okolina planine Zlatar **(Sakač i sar., 2012)**.

Plod heljde je trouglasto zrno sa tamnom ljuskom. Oljušteno zrno je svetlozelene do bele boje, Slika 2.3 **(Sakač i sar., 2012)**.





**Slika 2.3.** Izgled i delovi zrna heljde: a) cela zrna, b) ljuska, c) oljuštena zrna (**Sakač i sar., 2012**)

Heljda ima specifični hemijski sastav koji je svrstava u nutritivno visoko vrednu sirovinu, pre svega zbog proteina bogatih esencijalnim aminokiselinama, vitamina, minerala i prehrambenih vlakana. Oljušteno zrno sadrži 55% skroba, 12% proteina, 7% ukupnih prehrambenih vlakana, 4% lipida, 2% rastvorljivih ugljenih hidrata, uključujući saharozu i fagopiritole, 2% pepela i 18% ostalih komponenti, kao što su organske kiseline, polifenolna jedinjenja, tanini, nukleotid i nukleinske kiseline. U zavisnosti od vrste heljde varira i sadržaj pojedinih komponenti (**Krkoškova i Mrazova, 2005**).

Poredeći nutritivni profil proteina heljde sa drugim žitaricama, ocenjuje se kao visokokvalitetan, jer ga odlikuje relativno visok sadržaj lizina. Heljda sadrži visok nivo esencijalnih polinezasićenih masnih kiselina, kao što je linolna kiselina. Skrob i prehrambena vlakna su zastupljeni u sličnim količinama kao u žitima. Za heljdu je karakteristično i prisustvo nekoliko vitamina (B, C i E). Heljda takođe, sadrži makro i mikroelemente, kao što su K, Mg, P, Fe, Ca, Cu, Zn, Se, Ba, B, I, Pt i Co. Ovi elementi su koncentrisani u spoljašnjim slojevima zrna i u ljusci heljde (**Li i Zhang, 2001; Steadman i sar., 2001a; Bonafaccia i sar., 2003; Im i sar., 2003**). Rutin i kvercetin su dominantni antioksidanti heljde. Za razliku od većine žitarica, heljda ne sadrži gluten, i stoga je pogodna za ishranu osoba obolelih od celijakije. Pogodna je za proizvodnju niza funkcionalnih komponenata i finalnih proizvoda (**Sakač i sar., 2012**).

Mlevenje heljde najčešće se sprovodi na mlinu sa valjcima ili mlinu vodeničaru. U zavisnosti od toga koja se vrsta brašna želi, postoje dve metode mlevenja: potpuno mlevenje zrna za dobijanje brašna od celog zrna i mlevenje kojim se odvajaju različiti delovi zrna (brašno unutrašnjeg sloja, brašno srednjeg sloja i brašno spoljašnjeg sloja). Tokom prerade zrna, odnosno tokom mlevenja, nastaju sledeće frakcije celog zrna heljde:

ljuska, oljušteno zrno, integralno i belo heljdino brašno. Frakcije mlevenja heljde sadrže različite udele endosperma, klice i aleuronskog sloja, koji se veoma razlikuju po sastavu. Klica i aleuronski sloj sadrže najveći deo proteina, lipida i minerala **(Horbowicz i Obendorf,1992; Steadman i sar. 2001b)**.

Uobičajeni postupak u procesu proizvodnje integralnog heljdinog brašna podrazumeva mlevenje celog zrna na mlinu-vodeničaru i prosejavanje na situ ( $\emptyset 1100 \mu\text{m}$ ), što rezultira udelom ljuske od 6-8%. Da bi se dobilo belo heljdino brašno ljuska se odvaja od zrna na ljuštilici, a mleveno zrno prosejava na situ ( $\emptyset 460 \mu\text{m}$ ). Heljdine mekinje su bogat izvor ukupnih i rastvorljivih prehrambenih vlakana. Naročito bogat izvor prehrambenih vlakana predstavlja frakcija mlevenja heljde koja se sastoji od mekinja i delova ljuske (40% ukupnih prehrambenih vlakana, od kojih su 25% rastvorljiva). Mekinje bez delova ljuske sadrže 16% ukupnih prehrambenih vlakana, od kojih su 75% rastvorljiva **(Steadman i sar., 2001b)**.

Upotreba heljdinog brašna u pekarskoj, testeničarskoj i konditorskoj industriji može se razmatrati sa dva aspekta. Prvi je kreiranje proizvoda sa dodatom vrednošću iz kategorije funkcionalne hrane, a drugi primena heljdinog brašna u proizvodnji bezglutenskih proizvoda.

#### **2.1.4. Uloga žita u proizvodnji funkcionalne hrane**

Pojam „funkcionalna hrana“ prvi put se počeo koristiti u Japanu 1980-tih i odnosio se na prehrambene proizvode obogaćene nutrijentima koji poseduju korisna fiziološka delovanja **(Hardy, 2000; Kwak i Jukes, 2001; Stanton i sar., 2005)**. Funkcionalnu hranu nije lako obuhvatiti jedinstvenom definicijom. To je pre svega koncept, a ne dobro definisana grupa prehrambenih proizvoda. Hrana se može smatrati funkcionalnom ukoliko je naučno potvrđeno da pozitivno utiče na određene funkcije u organizmu, pored njenog uobičajenog nutritivnog dejstva, a u smislu promocije zdravlja i smanjenja rizika pojave bolesti. Funkcionalna hrana uvek mora biti u obliku hrane, a pozitivan efekat na zdravlje mora da se ispolji konzumiranjem uobičajene količine hrane **(Miletić i sar., 2008)**.

Da bi se ilustrovalo koncept funkcionalne hrane i njen značaj u unapređenju zdravlja potrebno je pokazati koji su to specifični nutrijenti i komponente hrane koje ciljano pozitivno deluju na određene fiziološke funkcije organizma. Funkcionalna jedinjenja su potencijalno korisni sastojci hrane, veoma raznoliki po svojoj strukturi, sa dokazanim pozitivnim zdravstvenim efektima, koji su posledica njihove biološke i fiziološke aktivnosti **(Kruger i Mann, 2003)**. U funkcionalna jedinjenja ubrajaju se: polifenoli, prehrambena vlakna, karotenoidi, masne kiseline, biljni steroli, prebiotici i probiotici, fitoestrogeni, proteini soje, vitamini i minerali **(IFICF, 2009)**. Veliki deo funkcionalne hrane poseduje funkcionalne osobine zahvaljujući prisustvu jedne ili više komponenti (biološki aktivna jedinjenja) sa povoljnim fiziološkim efektima **(Robertfroid, 2001)**. Nakon konzumiranja funkcionalne namirnice u digestivnom traktu se oslobađa biološki aktivno jedinjenje, koje deluje na mestu oslobađanja (prehrambena vlakna, probiotici) ili se resorbuje i distribuira do ciljnih tkiva, gde će ispoljiti povoljno dejstvo **(Miletić i sar., 2008)**.

Celo zrno žitarica i proizvodi od žitarica su važan deo ishrane ljudi, što je potvrđeno svrstavanjem ove grupe proizvoda u piramidu ishrane **(National Research Council, 1989)**. Cela zrna žita sadrže veoma važne fitohemikalije. Najznačajnije fitohemikalije koje se nalaze u celom zrnu žitarica su polifenolna jedinjenja, karotenoidi, vitamin E, lignani,  $\beta$ -glukan i inulin **(Sedej, 2011)**.

U poslednje vreme lekari i nutricionisti sve više preporučuju ljudima svih životnih dobi da u svoju ishranu uključe što više prehrambenih vlakana koja, dokazano brojnim istraživanjima, pružaju sledeće povoljne fiziološke učinke **(Muir i sar., 1993; Liu, 2007)**:

- podstiču i održavaju pravilnu probavu,
- smanjuju količinu holesterola u krvi,
- uravnotežuju količinu glukoze u krvi,
- sprečavaju i uklanjaju konstipaciju (zatvor),
- smanjuju apetit i pomažu mršavljenju i
- stvaraju zdravu crevnu mikrobiološku populaciju koja je osnova snažnog imuniteta

Prehrambena vlakna se definišu kao sastojci biljnih ćelija koji ne podležu digestiji od strane digestivnih enzima ljudskog organizma (**Trowel i Burkitt, 1986**). Celo zrno žita predstavlja odličan izvor prehrambenih vlakana. U prehrambena vlakna celog zrna žita spadaju celuloza, hemiceluloza, lignin i inulin, koji se nalaze u omotaču i skrobnom endospermu. Unos prehrambenih vlakana ishranom utiče na smanjenje rizika od hroničnih oboljenja (**Liu, 2007**). Dokazano je da povećan unos prehrambenih vlakna žita smanjuje rizik od srčanih oboljenja, za razliku od prehrambenih vlakana voća i povrća, koji ne ispoljavaju baš isti efekat (**Wolk i sar., 1999**). Rezultati brojnih studija ukazuju da prehrambena vlakna štite od pojave nekih vrsta kancera (**Kasum i sar., 2002**), gojaznosti i dijabetesa (**Meyer i sar., 2000; Koh-Banerjee i sar., 2004**).

Inulin je frukto-oligosaharid (2-60 fruktoznih jedinica), sa dugim lancima koje formiraju molekuli fruktoze povezani  $\beta$ -(2,1) vezom sa terminalnim molekulom glukoze (**Niness, 1999**). U biljkama inulin predstavlja rezervu ugljenih hidrata, međutim kada je unet u organizam ima ulogu prebiotika koji podstiče rast probiotskih bakterija i poboljšava absorpciju kalcijuma, magnezijuma i gvožđa iz creva.

Rezistentni skrob je skrob koji ne podleže digestiji u gornjem intestinalnom traktu i prelazi u debelo crevo i tu ga fermentiše crevna mikropopulacija. Značaj rezistentnog skroba je u fiziološkim funkcijama, kao što su poboljšanje glikemijskog odgovora i zdravlja debelog creva, omogućavanje manjeg unosa kalorija i regulisanje metabolizma masti (**Muir i sar., 1993**).

Porast saznanja o distribuciji fitohemikalija u delovima zrna–omotaču, klici i endospermu rezultiralo je povećanim interesovanjem za konzumiranje celog zrna žita. **Adom i sar. (2005)** su ustanovili da se većina fitohemikalija celog zrna pšenice nalaze u omotaču i klici. Ljuska i klica zrna žitarica su izvor bioaktivnih jedinjenja i ukoliko se konzumiraju kao deo svakodnevne ishrane mogu imati višestruko povoljan uticaj na zdravlje (**Liu, 2007**). Ova činjenica objašnjava značajno bolji nutritivni kvalitet brašna od celog zrna žita u poređenju sa belim brašnima, a samim tim i neophodnost promovisanja integralnih brašna među potrošačima.

Potražnja proizvoda poput integralnih brašna i proizvoda od integralnih brašna različitih žita je u porastu. Proizvodi ove vrste u ljudskoj ishrani pružaju izvanrednu mogućnost obogaćenja ishrane savremenog čoveka proizvodima od celog zrna žita sa akcentom na prehrambena vlakna.

### 2.1.5. Pekarski proizvod–testane kore

Prema preporukama nutricionista prikazanih piramidom ishrane, više od ukupne polovine dnevne energije treba da potiče iz grupe namirnica na bazi žita (hleba, testenina i drugih proizvoda). Po navodima **Hasan-a (1997)** globalna potrošnja pekarskih proizvoda i žita uopšte je povećana od 1970. godine sa prosečnom stopom od 25% godišnje. Ovako zabeležen rast podstaknut je potražnjom potrošača za vrhunskim proizvodima koji su sveži, hranljivi, pogodno upakovani i stabilni tokom roka upotrebe.

Asortiman proizvoda, čiju sirovinsku osnovu predstavlja brašno je vrlo velik. Učešće brašna u ovim proizvodima je različito. Kod nekih je brašno pored vode jedina sirovina, dok je u kod nekih konditorskih i poslastičarskih proizvoda udeo brašna oko 50%, ne računajući vodu. Osim pekarskih proizvoda od pšeničnog belog brašna, koji se najčešće proizvode, na tržištu se još mogu naći i pekarski proizvodi izrađeni i od različitih vrsta brašna koji imaju za cilj da održe zdravlje organizma i preveniraju različite bolesti uzrokovane nepravilnom ishranom (**Afzal i sar., 2013**). Alternativna brašna koja se primenjuju pri proizvodnji pekarskih proizvoda su: raženo, ovseno, kukuruzno, ječmeno, kao i brašna pojedinih kultura koja ne pripadaju žitaricama, već pseudožitaricama, poput heljadinog brašna. Prema nekim literaturnim navodima poznata je i upotreba kestenovog brašna kao alternativnog, koje doprinosi povećanju prehrambenih vlakana pekarskog proizvoda do 6,5 puta (**Šoronja – Simović i sar., 2016**).

S obzirom da se sastav proteina alternativnih brašna razlikuje u odnosu na sastav proteina pšeničnog brašna, formirano testo se razlikuje po elastičnosti i rastegljivosti, što kasnije utiče na zapreminu i strukturu gotovog proizvoda. Proizvodnja pekarskih proizvoda se zasniva na inicijalnoj proizvodnji testa, od kojih će se nakon obrade i dobiti finalni proizvodi. Osnovna sirovina za izradu testa je brašno, koje uz pomoć vode, tokom

zamesa, formira strukturnu mrežu sačinjenu od proteinsko–skrobnog matriksa (**Rinsky i Rinsky, 2008**). Dva osnovna uslova potrebna za razvoj testa su hidratacija proteina i uneta mehanička energija (**Cauvain i Young, 2005**). Dodatkom vode ili druge odgovarajuće tečnosti obezbeđuju se uslovi za hidrataciju proteina, a stepen hidratacije zavisi od kvaliteta proteina brašna izražene preko moći upijanja vode. Uneta mehanička energija omogućuje ubrzanje procesa hidratacije proteina, pri čemu se ručno ili uz pomoć mesilice znatno skraćuje vreme formiranja testa. Faza mešenja predstavlja proces u kojem se dva pomenuta uslova ostvaruju, a osnovni ciljevi mešenja testa su (**Hui i sar., 2006**):

- uniformno inkorporiranje svih sastojaka;
- hidratacija brašna i ostalih sastojaka i
- razvoj glutena (u slučaju pšeničnog i raženog brašna).

S obzirom na raznovrsnost teško je napraviti sistematizaciju proizvoda od brašna koja bi u potpunosti zadovoljila. Mogućnost inkorporiranja određenog udela heljdinog brašna u proizvode prvenstveno se sagledava kroz postizanje zadovoljavajućih tehnoloških karakteristika testa i proizvoda. Karakteristika heljdinog brašna je da se ne može razviti u testo koje karakterišu elastičnost i plastičnost, jer proteini brašna od heljde sadrže znatno manje prolamina od ostalih žitarica i ne sadrže gluten. Iz tog razloga, u pekarstvu, heljdino brašno nalazi primenu najčešće kroz supstituisanje određenog dela pšeničnog ili nekog drugog glutenskog brašna u formulaciji gotovog proizvoda (**Wei i sar., 1995**). Slično je i sa kukuruznim brašnom koje takođe ne sadrži gluten, neophodan za formiranje testa. Upotreba integralnog pšeničnog brašna u izradi pekarskih proizvoda s obzirom na udeo sastojaka ljuske može negativno da utiče na sposobnost vezivanja testa kao i da uslovljava vezivanje velike količine vode prilikom mešenja testa (**Stojanović i Psodorov, 2007**). Samim tim je upotreba i integralnog pšeničnog i kukuruznog brašna u pekarstvu svedena na supstituisanje određenog dela pšeničnog brašna.

Postoji nekoliko metoda za klasifikaciju pekarskih proizvoda, a jedan od njih je na osnovu vrednosti aktivnosti vode ( $a_w$ ). Prema klasifikaciji na osnovu vrednosti aktivnosti vode napravljena je sledeća podela (**Smith i Simpson, 1995**):

- pekarski proizvodi niske vrednosti aktivnosti vode ( $a_w < 0,6$ ),
- pekarski proizvodi srednje vrednosti aktivnosti vode ( $a_w$  između 0,6 i 0,85) i
- pekarski proizvodi visoke vrednosti aktivnosti vode ( $a_w > 0,85$ , tačnije između 0,95 i 0,99).

Testane kore predstavljaju pekarski proizvod povišene  $a_w$  čijom se upotrebom u pekarstvu i poslastičarstvu dobija širok asortiman proizvoda. Proizvodi se razlikuju u prvom redu po sastavu odnosno nadevu ili punilu i obliku. Uslovno su proizvodi od testanih kora sa slanim nadevom pekarski, a sa slatkim nadevom poslastičarski.

Testane kore se izrađuju u debljini od 0,2 do 0,5 mm pri čemu se tanje kore koriste za poslastičarske, a deblje kore za pekarske proizvode. Sirovine za proizvodnju testanih kora su brašno, voda i so. Vrlo retko se koriste i druge sirovine. Za izradu testanih kora, koriste se brašna sa visokim sadržajem glutena, ali određenih fizičkih svojstava. Proces proizvodnje testanih kora može da se odvija u zanatskim i industrijskim objektima. U zanatskim uslovima razvlačenje testanih kora se obavlja ručno, dok se u industrijskim uslovima proizvodnja obavlja na potpuno mehanizovanim i automatizovanim linijama. Linija za proizvodnju testanih kora uključuje sledeće operacije: zames, stanjivanje i razvlačenje, rezanje, sušenje i formatizovanje (**Žeželj, 2005**). Prema navodima **Tsiraki i sar. (2017)** automatizovana industrijska proizvodnja testanih kora omogućuje da ovakav proizvod bude dostupan u maloprodajnim objektima i supermarketima kao svež u tanjim listovima aerobno upakovan i skladišten u rashladnim uređajima.

Potreba za razvojem funkcionalnih pekarskih proizvoda prisutna je i u proizvodnji testanih kora. Na domaćem tržištu mogu se naći testane kore proizvedene od pšeničnog integralnog i heljadinog integralnog brašna.

## 2.2. Mikroorganizmi žita, mlinskih i pekarskih proizvoda

Mikroorganizmi su stalni pratioci zrna žitarica već za vreme vegetacije i čine sastavni deo zrnene mase. U nepovoljnim uslovima mikroorganizmi nisu aktivni i ne predstavljaju opasnost. Međutim, čim se ti uslovi promene mikroorganizmi se aktiviraju i

moгу da naprave velike materijalne i ekonomske štete (**Žeželj, 1995**). Zdrava zrna imaju svoju prirodnu zaštitu, dok su oštećena zrna napadnuta od strane mikroorganizama, lakša, bez sjaja i samim tim nisu odgovarajućeg kvaliteta, kako za neposrednu upotrebu, tako i kao sirovina za dalju preradu. Stepен mikrobiološke kontaminacije žita tokom skladištenja zavisi od količine oštećenih zrna, vrste i količine primesa, stepena aeracije, prosečne vlažnosti i temperature zrnene mase, vlažnosti i temperature vazduha u skladištima. Najčešći kontaminanti žitarica su sporogene bakterije i brojne plesni (**Žakula, 1980; Škrinjar i Tešanović, 2007**).

Bakterije, kvasci i plesni u brašnu i drugim mlinskim proizvodima najvećim delom potiču od samih žitarica, dok manji deo može da kontaminira mlinske proizvode u postupku manipulacije. Bakterijska populacija koja najčešće kontaminira mlinske proizvode pripada rodovima: *Micrococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Flavobacterium* spp., *Achromobacter* spp., *Xanthomonas* spp., *Clostridium* spp., *Escherichia coli* i dr. Pored bakterija, plesni su takođe česti kontaminanti mlinskih proizvoda. Najčešće plesni koje kontaminiraju mlinske proizvode pripadaju rodovima: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus* i dr. U odsustvu zaštitnog omotača koji je svojstven za celo neoštećeno zrno ovi proizvodi su podložniji delovanju mikroorganizama, pre svega plesni. Plesni su prilagođene na uslove redukovane vlažnosti supstrata pri kojima bakterije i kvasci se ne mogu razmnožavati (**Žakula, 1980; Žeželj, 1995; Kljusurić, 2000; Stojanović i Psodorov, 2007; Škrinjar i Tešanović, 2007**).

Brašno čini osnovu sirovinu svih pekarskih proizvoda kao i ostalih proizvoda na bazi žita. Preradom brašna u proizvode ne uništavaju se mikroorganizmi u svim fazama tehnološkog procesa. Neki mikroorganizmi nastavljaju svoje razviće. Mnogi mikroorganizmi brašna razmnožavaju se vrlo intenzivno u testu, pa od njih često zavisi kvalitet testa i kasnije kvalitet gotovog proizvoda (**Žakula, 1980**).

Mikrobiološka kontaminacija je čest i veliki rizik koji ograničava održivost pekarskih proizvoda srednjeg i visokog sadržaja vlage. Kontaminacija pekarskih proizvoda plesnima predstavlja ozbiljan ekonomski problem. Gubici nastali usled kontaminacije plesnima kreću se od 1% do 5% proizvoda zavisno od godišnjeg doba, vrste proizvoda i načina proizvodnje. Plesni predstavljaju najčešći uzrok ograničenja roka upotrebljivosti



pekarskih proizvoda, pogotovo proizvoda visoke i srednje vlažnosti (**Guynot i sar., 2003**). Na vrstu i broj plesni koje se mogu pojaviti na pekarskim proizvodima utiče više faktora kao što su vrsta i mikrobiološka slika sirovine, tehnološki postupak proizvodnje, higijena u procesu proizvodnje i tokom čuvanja, relativna vlažnost vazduha, godišnje doba. Najčešće izolovane plesni iz pekarskih proizvoda su *Aspergillus* vrste, kserofilne *Penicillium* vrste i vrste roda *Eurotium* (**Abellana i sar., 2000**). *Eurotium* vrste su najčešće prve plesni koje kolonizuju nepravilno osušene uskladištene proizvode. U stvari, kada rastu, nivo dostupne vode je poboljšán i time je omogućen rast drugim vrstama plesni (**Abellana et al., 2001**). Pored ekonomskih gubitaka vezanih za pekarske proizvode još jedna ozbiljna zabrinutost kada je u pitanju kontaminacija plesnima jeste mogućnost proizvodnje mikotoksina.

Iako su sveže pečeni pekarski proizvodi održivi, vegetativni oblici i spore plesni brzo ih kontaminiraju što je posledica unakrsne kontaminacije sporama iz vazduha, kontakta sa radnim površinama i opremom, osoblja koje rukuje pekarskim proizvodima i sirovih sastojaka kao što su glazure, orasi, začini i šećeri (**Hasan, 1997; Smith i sar., 2004**). Problemi sa plesnima postaju veći tokom letnjeg perioda zbog kontaminacije vazduhom i toplijih i vlažnijih uslova skladištenja (**Smith, 1993**).

Sa ovog aspekta posebno su značajne testane kore, zbog relativno visoke vrednosti  $a_w$  u rasponu od 0,96 do 0,98. Testane kore su uglavnom sklone kvarenju od strane psihrotrofnih aerobnih mikroorganizmima kao što je *Pseudomonas* spp. i plesni, ograničavajući rok trajanja na približno 3-5 dana, kada su aerobno pakovane i kada se čuvaju na temperaturi hlađenja od 4°C (**Tsiraki i sar, 2017; Tsiraki i sar., 2018**). S obzirom da su plesni najčešći kontaminanti ove grupe proizvoda u daljem tekstu akcenat je dat na plesnima i njihovim toksičnim metabolitima- mikotoksinima.

### 2.2.1. Plesni i mikotoksini

Plesni su eukarioti, nefotosintetički i aerobni mikroorganizmi. Većina vrsta su saprofiti. Zbog sposobnosti razmnožavanja u uslovima znatno redukovane vlažnosti uobičajeni su uzročnici kvarenja srednje i niskovlažne hrane. Kontaminacija hrane se može ostvariti u različitim fazama proizvodnje, prerade, distribucije i skladištenja. Za

mikrobiologiju mlinskih proizvoda mikrobiološki status zrna je važan činilac, zbog toga što u postupku obrade nema toplotnog tretmana koji bi doveo do značajne redukcije mikroorganizama. Mlevenjem zrna plesni se samo delimično odstranjuju, pogotovo ako su svojim filamentima prodrle u tkivo. Infekcija nastaje u pukotinama zrna i širi se, posebno u predelu klice jer je tu najslabiji zaštitni sloj **(Kljusurić, 2000)**.

Najčešće izolovane vrste plesni iz mlinskih proizvoda pripadaju rodovima *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Eurotium* i *Emericella* **(Kljusurić, 2000; Pitt i Hocking, 2009; Kocić-Tanackov, 2012)**.

Vrste rodova *Aspergillus*, *Penicillium* i *Eurotium* su "skladišne" plesni koje se razvijaju pri redukovanom sadržaju vlage u supstratu, tako da se mogu izolovati i iz drugih suvih proizvoda kao što su začini, sušeno voće, povrće i slični proizvodi **(Dimić, 1999; Krasić, 2003; Dimić i sar., 2005; Jay i sar., 2005; Montville i sar., 2005; Dimić i sar., 2007; Kocić-Tanackov i sar., 2007; Vukojević i sar., 2008; Hashem i Alamri, 2010)**.

Vrste iz rodova *Fusarium* i *Alternaria* su "poljske" plesni i za njihov razvoj je potreban veći sadržaj vlage u supstratu i niže temperature. Takođe, navode se i kao česti uzročnici oboljenja voća i povrća još u polju, pored vrsta iz rodova *Sclerotinia*, *Botrytis*, *Monillia*, *Rhizopus*, *Mucor* i *Penicillium* **(Ackerman, 1998; Kocić-Tanackov, 2004; Kocić-Tanackov i Škrinjar, 2004; Kosiak i sar., 2004; Maletić, 2005; Dimić i sar., 2006; Lević i sar., 2004; Lević, 2008)**.

Tokom rasta filamentozne plesni proizvode enzime: lipaze, proteaze, karbohidrogenaze. U hrani enzimi mogu nastaviti aktivnost nezavisno od uništenja ili uklanjanja micelije uzrokujući promene ukusa, mirisa, boje i konzistencije hrane **(Tindale i sar., 1989; Whitfield i sar., 1991; Filtenborg i sar., 2004)**. Vrste iz rodova *Penicillium*, *Aspergillus* i *Fusarium* mogu proizvoditi isparljiva jedinjenja, kao što su dimetildisulfid, geosmin i 2-metilisoborneol **(Larsen i Frisvad, 1995 a,b)**.

Plesni mogu delovati direktno na organizam izazivajući bolesti pod nazivom mikoze. Međutim, plesni mogu da proizvode i brojne sekundarne metabolite mikotoksine, toksične za ljude i životinje i izazivaju bolesti pod nazivom mikotoksikoze. Odlikuju se nekontagioznošću (nisu zarazna) i uvek su u vezi sa hranom. Smatra se da sekundarni

metaboliti najverovatnije imaju zaštitnu i regulatornu ulogu i predstavljaju neku vrstu „sigurnosnog ventila“ kojim se međuproizvodi nastali primarnim metabolizmom, uklanjaju iz ćelije u momentu kada se prekida faza optimalnog rasta plesni **(Fox i Howlett, 2008)**.

Kao proizvođači mikotoksina navode se vrste iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* i *Alternaria*, kao i teleomorfi klase *Ascomycetes* (*Petromyces alliaceus*, *Emericella nidulans*, i dr.) **(Samson i sar., 2004)**.

Biološka aktivnost mikotoksina na ljude i životinje obuhvata akutnu i hroničnu toksičnost (citotoksičnost, hepatotoksičnost, neurotoksičnost, teratogenost, mutagenost, kancerogenost). Prema stepenu toksičnosti mikotoksini se dele u tri grupe. Prvu grupu čine izrazito toksični mikotoksini, kao što su: ciklochlorotin, rubratoksin B, koji deluju letalno u količinama manjim od 1 mg/kg telesne mase (TM). Drugu grupu čine vrlo toksični mikotoksini, kao što su: aflatoksin B1, trihoteceni, citreoviridin, koji su letalni pri koncentracijama od 1 do 10 mg/kg TM. Treću grupu čine svi ostali toksični metaboliti sa letalnim efektom pri koncentracijama većim od 10 mg/kg TM **(Duraković i Duraković, 2003; Sinovec i sar., 2006)**.

Na ćelijskom nivou neki mikotoksini reaguju sa nukleinskim kiselinama pri čemu inhibiraju biosintezu makromolekula DNK i RNK ili proteina. Drugi mikotoksini deluju na strukture i funkcije bioloških membrana ili na području energetskeg metabolizma. Stepenu osetljivosti organizma na mikotoksine zavisi od pola, starosti, ishrane, stanja organizma, količine i vrste kao i dužine perioda njihovog unošenja **(Kocić-Tanackov i Dimić, 2013)**.

Mikotoksinima i mikotoksikozama se nije pridavala velika pažnja do pojave prvog masovnog pomora živine u Engleskoj 1960. godine kada je "X"-bolest ćurana, pačića i fazana uzrokovala velike ekonomske štete i dovela do otkrića uzročnika – aflatoksina (koji je dobio ime po vrsti koja ga je sintetisala, *Aspergillus flavus*, izolovane iz kikirikijevog brašna kojim je hranjena živina) **(Muñtanjola-Cvetković, 1990)**. Danas je poznato više od 600 vrsta mikotoksina, ali njihov broj se stalno povećava. Međutim, svega nekoliko mikotoksina je veoma dobro opisano u toksikologiji, kao što su aflatoksini B1, B2, G1, G2, sterigmatocistin (STC), ohratoksin A (OA) i zearalenon. Od mikotoksina najviše su istraživani aflatoksini.

Pored *A. flavus* primarni proizvođač aflatoksina je i *A. parasiticus*. Ohratoksin A proizvode *A. ochraceus* i *Penicillium verrucosum*. Po proizvodnji sterigmatocistina najpoznatije vrste su *A. versicolor* i *Emericella nidulans*. Zearalenon, uključujući fumonizine i trihotecene kojima se pridaje sve veći značaj, toksični su metaboliti *Fusarium* vrsta. *Alternaria* vrste sintetišu alternariol (AOH), alternariol monometil etar (AME), tentoksin (TEN), tenuazonična kiselina (TeA), alvertoksini (ATX-I i II). *Penicillium expansum* i *P. griseofulvum* navode se kao najznačajniji proizvođači patulina u hrani **(Duraković i Duraković, 2003; Samson i sar., 2004; Sinovec i sar., 2006; Pitt i Hocking, 2009)**.

### 2.2.2. Faktori rasta plesni i biosinteze mikotoksina

Pored prisustva hranljivih materija, najvažniji faktori za rast plesni i sintezu mikotoksina su temperatura,  $a_w$  vrednost, prisustvo kiseonika, pH vrednost i prisustvo drugih mikroorganizama **(Muñtanjola-Cvetković, 1990; Sinovec i sar., 2006)**.

Za sintezu mikotoksina pored gore navedenih uslova neophodno je i prisustvo plesni sa genetskom osnovom za biosintezu. Važno je napomenuti i da:

- prisustvo plesni ne znači i produkciju mikotoksina (ukoliko plesan ne poseduje genetsku osnovu za biosintezu mikotoksina i/ili zbog neodgovarajućih uslova za biosintezu),
- toksigena plesan može biosintetisati nekoliko mikotoksina,
- isti mikotoksin mogu biosintetisati različiti rodovi toksigenih plesni i
- mikotoksin može biti prisutan u hrani, a da plesan nije više prisutna **(Duraković i Duraković, 2003)**.

Većina vrsta plesni su mezofilni organizmi i rastu u temperaturnom intervalu od 10 do 40°C, pri čemu je optimalna temperatura rasta između 25 i 35°C. Optimalna temperatura rasta za većinu *Penicillium* spp. je između 25 i 30°C, a za *Aspergillus* spp. između 30 i 40°C, pa su plesni poput *Aspergillus* vrsta češće u toplijim krajevima, dok su *Penicillium* vrste češće u hladnijim klimatskim krajevima **(Frisvad, 1995)**. Mali broj vrsta spada u termofilne organizme koji rastu u uslovima visoke temperature od 60°C (*Chaetomium thermophilum*, *Talaromyces emersoni*, *Paecilomyces variotii*). Plesni otporne

na nisku temperaturu oštećuju uskladištene proizvode. Spore mogu ostati vijabilne na niskim temperaturama duže vreme (spore *Aspergillus aureolatus* su preživele dve godine na  $-20^{\circ}\text{C}$ ) (**Muntañola-Cvetković, 1990**).

Uticaoj vlažnosti na rast plesni može se razmatrati na nekoliko načina, kao slobodna voda ( $a_w$ ), kao ukupan sadržaj vlage i kao relativna vlažnost. U prehrambenoj industriji najčešće se govori o aktivnosti vode ili  $a_w$  vrednosti, koja predstavlja slobodnu vodu u hrani dostupnu za rast plesni. Pojava plesnivosti je najčešći tip kvarenja uskladištenih suvih biljnih proizvoda. Aktivnost vode od 0,70 inhibira rast većine plesni koje uzrokuju kvarenje hrane, dok je na  $a_w$  od 0,62 onemogućen bilo kakav rast ovih mikroorganizama (**Muntanola-Cvetković, 1990**). Aktivnost vode zrna žitarica i brašna kreće se uglavnom u granicama između 0,86 i 0,70, što omogućava razvoj kserofilnim plesnima (plesni suvih staništa) (**Škrinjar i sar., 2000**). Kserofilnih plesni pre svega ima u rodovima *Aspergillus*, *Eurotium*, *Xeromyces*, *Wallemia*, *Chrysosporium*, *Penicillium*, *Paecilomyces* i nekim drugim (**Beuchat i Hocking, 1990**).

Ukupan sadržaj vlage u zrnima žita i brašnu ne sme da prelazi 15% (**Žakula, 1980; Škrinjar i Tešanović, 2007**). Plesnivost brašna nastaje ukoliko je relativna vlažnost vazduha 79-80% (**Kljusurić, 2000**). Podela plesni na „poljske“ i „skladišne“ zasniva se pre svega na različitim uslovima  $a_w$  i temperature potrebnim za rast. Za rast „poljskih“ plesni (*Fusarium*, *Alternaria*, *Gibberella*) neophodna je veća vlažnost supstrata ( $>20\%$ ) i niže temperature, pa najčešće kontaminiraju biljke još u polju. „Skladišne“ plesni (*Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Eurotium* spp., *Walemia* spp., *Xeromyces* spp.) zahtevaju nižu vlažnost supstrata (13-18%) i više temperature, zbog toga se češće izoluju iz skladišta. Međutim, povoljni uslovi za rast i razvoj specifične vrste plesni mogu se stvoriti i na polju i u skladištu, pri čemu je važan faktor za rast minimalna  $a_w$  od 0,68 ili 14 % vlage (**Noots i sar., 1999; Sinovec i sar., 2006; Oliveira i sar., 2014**).

Aktivnost vode utiče i na biosintezu mikotoksina. Biosinteza aflatoksina B1 na kikirikiju je bila optimalna pri  $a_w$  od 0,95, dok na  $a_w$  od 0,85 i nižim vrednostima nisu bile utvrđene signifikantne količine ovog mikotoksina (**Diener i Davis, 1967**).

Interakcija između  $a_w$  i temperature je najznačajniji faktor za rast plesni i biosintezu mikotoksina (**Gqaleni i sar., 1997**). Aflatoksin B1 može biti sintetisan u uslovima minimalne  $a_w$  i temperature rasta plesni. Optimalne temperature za biosintezu AB1 od strane *Aspergillus flavus* se kreću u rasponu od 24 do 35°C. Sinteza aflatoksina opada sa smanjenjem temperature i prestaje između 10 i 13°C. Minimalne vrednosti  $a_w$  za biosintezu aflatoksina kreću se u rasponu od 0,81 do 0,82 i od 0,83 do 0,87 (**Gqaleni i sar., 1997**). Biosinteza citrinina, ohratoksina A (OA) i sterigmatocistina na podlozi analognoj hlebu ustanovljena je pri  $a_w > 0,80$ , a produkcija patulina pri  $a_w$  od 0,95 (**Patterson i Damoglou, 1986**).

U Tabeli 2.2 prikazane su minimalne  $a_w$  vrednosti pri kojima se mogu razmnožavati pojedine vrste plesni.

**Tabela 2.2.** Minimalne  $a_w$  vrednosti pri kojima se mogu razmnožavati pojedine vrste plesni (**Pitt i Hocking, 2009**)

Vrsta plesni	Minimalna $a_w$ vrednost
<i>Alternaria alternata</i>	0,94
<i>Aspergillus flavus</i>	0,78-0,84
<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,78
<i>Aspergillus versicolor</i>	0,78-0,80
<i>Aspergillus niger</i>	0,77
<i>Aspergillus clavatus</i>	0,87-0,88
<i>Aspergillus parasiticus</i>	0,80-0,82
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0,86
<i>Eurotium herbariorum</i>	0,72-0,74
<i>Eurotium chevalieri</i>	0,71-0,74
<i>Eurotium amstelodami</i>	0,70-0,75
<i>Fusarium graminearum</i>	0,90
<i>Fusarium proliferatum</i>	0,88
<i>Mucor racemosus</i>	0,88
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	0,81
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0,78-0,79
<i>Penicillium expansum</i>	0,82-0,83
<i>Penicillium griseofulvum</i>	0,81-0,83
<i>Penicillium oxalicum</i>	0,86
<i>Penicillium rugulosum</i>	0,86
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0,94
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	0,90

Plesni mogu rasti u širokom opsegu pH vrednosti od 2,0 do 9,0, pri čemu je optimalna pH između 5,0 i 5,5 (**Muntanola-Cvetković, 1990**).

Prisustvo drugih mikroorganizama može smanjiti rast plesni i produkciju mikotoksina. Ovakvi odnosi se objašnjavaju fizičkom kompeticijom za prostor i hranjive materije, kompeticijom za jedinjenja neophodna za biosintezu mikotoksina, biohemijskom promenom sredine koja utiče na metaboličke puteve plesni i degradacijom sintetisanih mikotoksina (**Sinovec i sar., 2006**).

Za rast plesni i produkciju mikotoksina važan je i faktor vremena. Potrebno vreme za klijanje spora je do deset dana u neodgovarajućim uslovima, a samo jedan dan u optimalnim uslovima (**Filtenborg i sar., 2004**).

Na osnovu svega navedenog preventivne mere u sprečavanju kontaminacije hrane plesnima jesu najopravdaniji metod u sprečavanju štetnih efekata plesni i njihovih metabolita na zdravlje ljudi i životinja. Kao rezultat svega javlja se potreba za novim antifungalnim sredstvima u cilju inhibicije rasta plesni, a da pri tom predstavljaju prirodnu alternativu hemijskim konzervansima.

### **2.3. Etarska ulja lekovitih i začinskih biljaka u kontroli rasta plesni**

Zaštita hrane od kontaminacije plesnima započinje još u polju primenom raznih fungicida, agrotehničkih mera i stvaranjem novih sorti koje su otporne na toksigene vrste. U daljoj preradi sirovina moguća je upotreba konzervanasa sa ciljem umanjenja kvara i osiguranja bezbednosti proizvoda. Međutim, u poslednje vreme sve veći značaj se pridaje negativnim efektima upotrebe sintetičkih konzervanasa. Iz tih razloga, veliko je interesovanje za upotrebu raznih prirodnih agenasa u cilju zaštite hrane od mikrobiološkog kvara i produžetka roka upotrebe. Sa današnjim sve većim interesovanjem za takozvane „organske“ ili „zelene“ aditive, istraživanja su usredsređena na prirodna antimikrobna sredstva koja bi potencijalno mogla da produže rok trajanja kvarljivih prehrambenih proizvoda, istovremeno garantujući njihovu bezbednost (**Burt, 2004**). Rezultat svega

navedenog jesu opsežna istraživanja na primeni etarskih ulja, ekstrakata i oleorizina ekstrahovanih iz raznih začina i aromatičnih biljaka, kao alternativnih konzervansa u zaštiti hrane. Mnoga etarska ulja dobijena iz biljnog materijala poznata su kao sigurni proizvodi (GRAS) i predstavljaju alternativu konzervansima **(Prakash i sar., 2012)** kao i u zaštiti hrane od mikotoksigenih plesni i njihovih toksičnih proizvoda **(da Cruz Cabral, 2013)**.

Etarska ulja su tečni proizvodi sekundarnog metabolizma viših biljaka. Biljke u kojima su glavni sastojci isparljivi mirisni proizvodi - etarska ulja nazivaju se aromatične biljke. Aromatične biljke su veoma rasprostranjene u prirodi kao samonikle. Veliki deo njih se gaji radi proizvodnje sirovina, začina i etarskih ulja. Etarska ulja se mogu nalaziti u svim delovima biljke, a njihova uloga je prvenstveno zaštitna. U svetu je poznato više od 2500 aromatičnih biljnih vrsta. Aromatične biljne vrste su najviše zastupljene u raznim rodovima iz porodica usnatica *Lamiaceae*, štitonoša *Apiaceae*, glavočika *Asteraceae* i drugih kao što su *Rutaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae* **(Mišan i sar., 2013)**.

Biljke familije *Lamiaceae*, koje se uglavnom nalaze u mediteranskom regionu, koriste se za proizvodnju etarskih ulja koja pokazuju antimikrobna i antioksidativna svojstva **(Nieto, 2017)**.

Sinteza i sekrecija etarskog ulja u biljkama odvija se u specijalizovanim strukturama koje se mogu podeliti na spoljne (žlezdane dlake i osmore) i unutrašnje sekretorne strukture (uljne ćelije, sekretorne šupljine, sekretorni kanali) **(Kostić i sar., 2012)**.

Etarska ulja su bistre, aromatične, isparljive, lako pokretljive, bezbojne ili žućkaste tečnosti. Po fizičko-hemijskim osobinama su lipofilna. Ne rastvaraju se u vodi, rastvaraju se u nepolarnim organskim rastvaračima, etanolu, mastima i masnim uljima. Miris je svojstven biljci iz koje su izolovani **(Mišan i sar., 2013)**.

Postoji više načina za dobijanje etarskih ulja iz aromatičnih biljaka, kao što su destilacija vodenom parom, ekstrakcijom pomoću organskih rastvarača, ceđenjem pod pritiskom i tzv. „anfleraž“ (postupak za dobijanje najfinijih etarskih ulja iz svežih cvetova) **(Mišan i sar., 2013)**.



Složenim instrumentalnim tehnikama, najčešće gasnom hromatografijom GC i masenom spektroskopijom GC/MS, vrši se kvalitativna i kvantitativna analiza hemijskog sastava izolovanih etarskih ulja. Etarska ulja se mogu sastojati od više od 60 pojedinačnih komponenti. Glavne komponente mogu biti prisutne do 85% u etarskom ulju, dok su druge prisutne samo u tragovima (Tabela 2.3). Fenolne komponente su posebno odgovorne za antimikrobna svojstva etarskih ulja. Postoje indicije da sporedne komponente imaju ključnu ulogu u antimikrobnoj aktivnosti, najverovatnije zbog uspostavljanja sinergističkog efekta sa drugim komponentama. Ovo je pronađeno u slučaju žalfije, određenih vrsta timijana i origana **(Burt, 2004; Tajkarimi i sar., 2010)**.

Etarska ulja se sastoje od hemijskih jedinjenja sa vodonikom, ugljenikom i kiseonikom, a koj se mogu podeliti u dve grupe:

- ugljovodonici (oni su sastavljeni skoro u potpunosti od terpena i mogu biti mono-, seskvi- i di-terpeni)
- oksigenova jedinjenja (uglavnom su to estri, aldehidi, ketoni, alkoholi, fenoli i oksidi, a ponekad su prisutne i kiseline, laktoni, sumporna i azotna jedinjenja) **(Marković, 2011)**.

Pomenuta jedinjenja mogu se naći u etarskim uljima sa različitim učešćem **(Marković, 2011)**. Na osnovu dugogodišnjih detaljnih kvalitativnih analiza isparljivih sastojaka mnogih biljaka organske supstance koje učestvuju u formiranju mirisa mogu se svrstati u najmanje pet grupa: terpenoidi, alifatična isparljiva jedinjenja, aromatična isparljiva jedinjenja, isparljive supstance koje sadrže azot i sumporna jedinjenja **(Kostić i sar., 2012)**.

Terpenoidi su osnovni sastojci etarskih ulja koji su odgovorni za karakterističan miris velikog broja biljaka. Prema najopštijoj klasifikaciji terpenoidi spadaju u proste lipide, odnosno u lipide koji ne podležu saponifikaciji. U suštini, terminom terpenoid pokrivena je velika oblast biljnih supstanci koje imaju zajedničko biosintetsko poreklo. U zavisnosti od broja ugljenikovih atoma (C10 ili C15), terpenska frakcija etarskih ulja može se podeliti na monoterpene i seskviterpene. Mono i seskviterpeni se razlikuju po isparljivosti, odnosno tački ključanja (monoterpeni ključaju na 140-180<sup>0</sup>C, a seskviterpeni na temperaturi višoj

od 200°C). Iz tog razloga su monoterpeni i jednostavni seskviterpeni zastupljeni u isparljivijim frakcijama, dok su polioksidovani seskviterpeni i diterpeni zastupljeni u neisparljivim frakcijama i smolama **(Kostić i sar., 2012)**.

Alifatična isparljiva jedinjenja su često i glavni mirisni sastojci. Proučavanjem isparljivih frakcija cvetova i voća primećeno je da posebno mesto pripada alifatičnim sastojcima. Ta alifatična jedinjenja su po strukturi ili jednostavni dugolančani ugljovodonici sa 12-19 C-atoma ili njihovi oksid-derivati **(Thien i sar., 1975)**.

Alifatična isparljiva jedinjenja odgovorna su za mnoge "voćne" mirise. Karakterističan miris ploda banana potiče od amil-acetata, jabuke od etil-2-metilbutirata, a kruške od etil-dekadienoata **(Nursten, 1970)**.

Aromatična isparljiva jedinjenja su česti sastojci etarskih ulja i najčešće se nalaze u obliku fenil-propanoide, koji se u prirodnom materijalu nalaze vezani u obliku glikozida, ili estara polifunkcionalnih kiselina, što ih čini neisparljivim i rastvornim u vodi. Pri obradi biljnog materijala, pod dejstvom enzima ili spoljnih faktora, ti derivati podležu hidrolizi, i oslobođeni liposolubilni isparljivi fenil-propanoide postaju komponente etarskog ulja. U grupi fenilpropanoide posebno mesto pripada kumarinima čije prisustvo predstavlja jednu od 14 glavnih karakteristika biljaka iz familija *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Apiaceae* i *Poaceae*. U biljnom tkivu kumarini se nalaze u vezanoj formi i oslobađaju se enzimskom hidrolizom nakon povredjivanja tkiva, na primer miris pokošenog sena je rezultat oslobađanja isparljivih kumarina. Aromatična isparljiva jedinjenja se osim u obliku fenil-propanoide mogu javiti i u obliku derivata benzojeve kiseline kao što je vanilin i metal-estar silicilne kiseline **(Kostić i sar., 2012)**.

Isparljive supstance koje sadrže azot izazivaju izrazito neprijatan, prodoran miris biljaka kod kojih se sreću (perunika, kukurek). Smatra se da neprijarni mirisi cvetova predstavljaju hemijsku mimikriju pomoću koje biljke simuliraju miris raspadnutog fecesa da bi privukle pažnju lešinarskih i djubretarskih muva radi oprašivanja. Isparljiva azotna jedinjenja, sastojci etarskog ulja, su ili derivati indola, ili alifatični amini (primarni, sekundarni ili tercijarni). Takodje, izvestan broj biljaka sadrži HCN vezanu u obliku kristalnih, gorkih, neisparljivih cijanogenih heterozida. Hidrolizom, pod uticajem enzima ili

razblaženih kiselina ti heterozidi oslobadjaju isparljivi aglikon karakteristicnog mirisa u kojem je labilno vezan HCN (**Kostić i sar., 2012**).

Sumporna jedinjenja - izvestan broj biljaka sadrzi organske isparljive metabolite sa sumporom (**Ettlinger i Kjaer, 1968**). Njihovo prisustvo se uočava zbog neprijatnog mirisa koji draži i peče oči, sluznicu i kožu. Sumporna jedinjenja su zastupljena naročito u semenu, korenu i lukovicama, i predstavljaju važnu taksonomsku karakteristiku biljaka iz familija *Brassicaceae*, *Capparidaceae*, *Tropaeolaceae*, *Alliaceae*, *Liliaceae*, *Resedaceae*. Postoje dve različite klase isparljivih jedinjenja sa sumporom. Jedna klasa su izosulfocijanati (opšta karakteristika predstavnika familije *Brassicaceae*), ljutog iritirajućeg mirisa i gorkog ukusa. Druga klasa su organski disulfidi (prisutni u mnogim vrstama roda *Allium*, familija *Alliaceae*, kao i u nekim predstavnicima familije *Brassicaceae*), neprijatnog mirisa na pokvarena jaja. Zajednička karakteristika izosulfocijanata i organskih disulfida jeste da se oni u biljci i neozleđenim biljnim organima nalaze u vezanoj, neisparljivoj formi. Puna snaga mirisa javlja se tek kao rezultat enzimske hidrolize nakon ozleđivanja tkiva (**Kostić i sar., 2012**). Komponente etarskih ulja učestvuju u metabolizmu biljaka. Mnoga etarska ulja imaju fungicidno i baktericidno dejstvo i štite biljke od infekcija (**Piletić i Milić, 1989**).

Za antifungalnu aktivnost etarskih ulja važna je hemijska struktura glavnih komponenti. Prisustvo i položaj hidroksilne grupe u molekulu, prisustvo aromatičnog jezgra, prostorna orijentacija i rastvorljivost u mastima utiču na antifungalnu aktivnost (**Raccach, 1984**).

**Farag i sar. (1989)** navode da se aktivna jedinjenja koja sadrže hidroksilnu grupu (-OH) odlikuju visokim antimikrobnim delovanjem. Zamena hidroksilne grupe alkil grupom u fenolnom jedinjenju pojačava njegovo antimikrobno delovanje. Prisustvo aromatičnog jezgra sa polarnim funkcionalnim grupama određuje inhibitorna svojstva komponenata. U odnosu na karbonilnu grupu hidroksilna grupa je efikasnija, jer lako vezuje aktivne centre enzima vodoničnim vezama (**Decker, 1995**).

**Tabela 2.3.** Glavne komponente etarskih ulja začina/aromatičnih biljaka **(Ceylan i Fung, 2004; Zhang i sar., 2006)**

Naziv/aromatična biljka/ začin	Latinski naziv	Glavne komponente etarskih ulja
Piment	<i>Pimenta dioica</i>	Eugenol
Anis( seme)	<i>Pimpinella anisum</i>	Anetol
Bosiljak	<i>Ocimum basilicum</i>	d-linalol, metil kavikol
Lovor	<i>Laurus nobilis</i>	Cineol
Kim	<i>Carum carvi</i>	$\alpha$ -karvon
Kardamom	<i>Elettaria cardamomum</i>	Cineol, $\alpha$ -terpinil acetat
Cimet	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Cinamaldehyd
Karanfilić	<i>Syzygium aromaticum</i>	Eugenol
Koriander( seme)	<i>Coriandrum sativum</i>	d-linalol
Mirođija( seme)	<i>Anethum graveolens</i> (Evropa i Amerika) <i>A. sowa</i> (Indija)	d-karvon
Morač( seme)	<i>Foeniculum vulgare</i>	Anetol
Đumbir	<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberen, cineol, borneol, geraniol, zingeron
Cvet oraščića	<i>Myristica fragrans</i>	Miristicin, $\alpha$ -pinen, safrol
Majoran	<i>Majorana hortensis</i>	Linalol, metil kavikol, 4-terpineol
Nana	<i>Mentha piperita</i> (pepermint) <i>M. spicata</i> (spermint)	$\alpha$ -pinen, $\beta$ -pinen, limonen, cineol(pepermint), 1-karvon(spermint)
Muskatni oraščić	<i>Myristica fragrans</i>	Miristicin, sabinen
Origano	<i>Origanum vulgare</i>	Timol, karvakrol
Peršun	<i>Petroselinum crispum</i>	Miristicin, $\alpha$ -pinen, $\beta$ -felandrin
Crni biber	<i>Piper nigrum</i>	Monoterpeni hidrokarboni, piperin
Zeleni biber	<i>Piper nigrum</i>	Monoterpeni hidrokarboni, piperin
Ruzmarin	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Borneol, $\alpha$ -pinen, kamfen, cineol, ruzmarinska kiselina
Žalfija	<i>Salvia officinalis</i>	$\alpha$ -i $\beta$ -tujoni, borneol, cineol
Čubar	<i>Satureja hortensis</i>	Karvakrol, monoterpeni, hidrokarbon
Estragon	<i>Artemisia dracunculus</i>	Metil-kavikol, anetol, $\gamma$ -terpinen
Majčina dušica	<i>Thymus vulgaris</i>	Timol

Efikasnost nefenolnih jedinjenja zavisi od vrste alkilne grupe pri čemu je alkenil aktivniji od alkila **(Ruiz i Flotats, 2014)**. Alkenil supstituent (-CH=CH-) kao u limonenu povećava antimikrobno delovanje u poređenju sa alkil supstituentom (-C $\equiv$ C-), kao u *p*-cimenu. Takođe i prisustvo acetatnih struktura pojačava aktivnost komponente. Na primer, geranil-acetat je pokazao jače antimikrobno delovanje prema test mikroorganizmima od geraniola **(Dorman i Deans, 2000)**. Prisustvo kiseonične grupe u

monoterpenima i njihovim karboniliranim produktima značajno povećava njihovo antifungalno delovanje **(Naigre i sar., 1996)**.

U literaturi se navodi niz istraživanja u kojima je testirano fungicidno delovanje različitih etarskih ulja. Ekstrakt iz cvetnih pupoljaka karanfilića ispoljio je fungicidno delovanje na *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Botrytis* sp. i *Septoria* sp. Efikasnim se pokazalo i ulje žalfije u suzbijanju *B. cinerea*, dok je ulje origana, majčine dušice i limunske trave delovalo fungicidno na prouzrokovalač bolesti uskladištenog paradajza **(Grahovac i sar., 2009)**. Etarsko ulje bosiljka i kima ispoljilo je antifungalni efekat na plesni izolovane sa površine fermentisanih kobasica **(Kocić-Tanackov i sar., 2020)**.

**Cairns i Magan (2003)** su saopštili rezultate istraživanja koji pokazuju uticaj etarskih ulja cimeta i karanfilića na rast mikotoksigenih plesni *Fusarium* vrsta, *P. verrucosum*, *A. ochraceus* i sintezu deoksinivalenola (DON) i OA u različitim uslovima temperature i vlage. Delovanjem ulja cimeta i rasveratrola na pšenicu smanjen je sadržaj DON-a za 90%. Pri različitim uslovima temperature i vlage zabeležene su različite koncentracije etarskih ulja karanfilića, cimeta i timijana, kao i rasveratrola koje su smanjile do 50% rast *A. ochraceus* na pšenici i produkciju OA **(Carns - Fuller, 2004; Magan i Aldred, 2007)**. Studije koje su sproveli **Gömöri i sar. (2018)** ukazuju na to da je etarsko ulje kleke pokazalo slabiji inhibitorni efekat na rast *A. parasiticus* i sintezu aflatoksina u poređenju sa etarskim uljem kima, žalfije i majorana. Prema navodima **Prakash i sar. (2016)** etarsko ulje kima u koncentraciji od 2 µl/ml potpuno je inhibiralo rast *A. flavus* i sintezu aflatoksina. Prema literaturnim navodima etarsko ulje kima u koncentraciji od 1,5 µl/g inhibiralo je sintezu aflatoksina za 98% u odnosu na kontrolu, dok pri koncentracijama etarskog ulja kima od 4,5 i 9 µl/g nije utvrđen sadržaj aflatoksina **(Kocić-Tanackov i sar., 2019; Kocić-Tanackov i sar., 2021)**. Prema istim autorima etarsko ulje kleke u koncentracijama od 50 i 70 µl/g u potpunosti je inhibiralo sintezu aflatoksina u palenti.

Antifungalni efekat etarskih ulja na plesni se može pratiti na makromorfološkom nivou i na nivou ćelije. Neke od morfoloških promena su izostanak sporulacije, gubitak pigmenta, aberantni razvoj konidiofora, promena u broju konidija, povećano grananje hifa ili promena u njihovoj veličini. Smatra se da su ove promene posledica delovanja ulja na

enzimatske reakcije sinteze ćelijskog zida što utiče na rast plesni i na morfogenezu, kao i na povlačenje citoplazme u hifama što dovodi do smrti micelijuma (**Rasooli, 2004; Carmo i sar., 2008**).

Na nivou ćelije plesni etarska ulja najčešće deluju ili inhibicijom sinteze ćelijskog zida ili na nivou citoplazmatične membrane. Etarska ulja menjaju elastičnost membrane. Membrana postaje jače propustljiva što rezultira gubitkom radikala, citohroma C, jona Ca i proteina, kao i oksidativnim stresom. Etarska ulja mogu da remete aktivnost membrane mitohondrija, odnosno aktivnost enzima u respiratornom lancu. Propustljivost spoljašnje i unutrašnje membrane mitohondrija dovodi do nekroze ćelija i smrti (**Bakkali i sar., 2008; Pinto i sar., 2013**). Dokazano je da etarska ulja mogu inhibirati i sintezu DNK, RNK, proteina i polisaharida u ćelijama bakterija i gljiva u kojima izazivaju promene slične delovanju antibiotika (**Kalemba i Kunicka, 2003**). Prema navodima **Wang i sar. (2018)** etarska ulja deluju na gene odgovorne za biosintezu mikotoksina i tako sprečavaju njihovo lučenje.

**Daferera i sar. (2000)** navode da je fungitoksično delovanje etarskih ulja posledica stvaranja vodoničnih veza između hidroksilnih grupa fenolnih jedinjenja i aktivnih centara ćelijskih enzima. **Lucini i sar. (2006)** su istakli da je inhibicija rasta micelije plesni uzrokovana monoterpenima. Ove komponente mogu povećati koncentraciju lipidnih peroksida, kao što su hidroksil, alkoksil i alkoperoksidni radikali i tako dovesti do uništenja ćelija. Jaka antifungalna aktivnost aldehida, cinamaldehida, perilaldehida, citrala i citronelala je verovatno posledica njihove sposobnosti da reaguju sa -SH grupama enzima plesni i formiraju komplekse za prenos naelektrisanja sa molekulima donorima elektrona. Porast elektronegativnosti pojačava antimikrobno delovanje (**Kurita i sar., 1979**).

Etarska ulja koriste se u *in vivo* istraživanjima zbog svojih antimikrobnih i antioksidativnih svojstava prema različitim vrstama plesni i bakterija, a sa ciljem da se koriste kao tehnologija koja bi omogućila produženje roka održivosti namirnica (**Kordali i sar., 2005; Murbach Teles Andrade i sar., 2014; Bounar i sar., 2020; Reyes-Jurado i sar., 2019**). Najveći broj ispitivanja posvećen je mogućoj primeni etarskih ulja u redukciji kontaminacije uskladištenog voća i povrća, ali i na žitaricama i proizvodima od žitarica. Rezultati ovakvih istraživanja ukazuju da etarska ulja različitih biljnih vrsta redukuju nivo

kontaminacije na voću i povrću koje tretirano rastvorom etarskog ulja prskanjem i premazivanjem ili potapanjem **(Stević, 2013)**.

**Nielsen i Rios (2000)** objavili su upotrebu etarskog ulja slačice, cimeta, belog luka, karanfilića, origana i vanile u antifungalnoj zaštiti rezanog hleba, pri čemu je etarsko ulje slačice ispoljilo najjači antifungalni efekat. **Krish i sar. (2013)** objavili su da je etarsko ulje majorana i žalfije ispoljilo antifungalno dejstvo u očuvanju rezanog hleba. **Otoni i sar. (2014)** su ispitivali upotrebu etarskog ulja karanfilića i origana na rezani pakovani hleb. Prema navodima **Sendanyoye (2018)** etarsko ulje dve vrste eukaliptusa inhibiralo je rast plesni batata i hleba od sirka. Dodavanjem etarskog ulja kima i kleke inhibiran je rast plesni u palenti **(Kocić-Tanackov i sar., 2019)**.

S obzirom na supstituciju dela pšeničnog brašna tip 500 pšeničnim integralnim, heljadinim integralnim i kukuruznim integralnim brašnom i upotrebu etarskih ulja lekovitih i začinskih biljaka u antifungalnoj zaštiti testanih kora, kao rezultat svega javlja se potreba za senzorskom ocenom testanih kora u cilju utvrđivanja uticaja procesnih parametara na senzorski kvalitet i prihvatljivost testanih kora.

## 2.4. Senzorska ocena hrane

Senzorska analiza je naučna disciplina koja se primenjuje za evociranje, merenje, analiziranje i tumačenje reakcija koje nastaju kao rezultat delovanja određenih svojstava hrane na čulo vida, mirisa, ukusa, dodira i sluha **(Stone i Sidel, 2004)**.

Senzorska analiza se može koristiti kao deo kontrole kvaliteta sirovina i gotovih proizvoda, za predviđanje roka trajanja proizvoda i za praćenje promena koje se dešavaju tokom njegove distribucije, ali i za utvrđivanje uticaja zamene neke od osnovnih sirovina ili promene procesnih parametara tokom proizvodnje, na senzorski kvalitet i prihvatljivost proizvoda. Primenom senzorske analize mogu se čak definisati granice u kojima se promene mogu kretati, a da to ipak ne naruši prihvatljivost proizvoda kod potrošača **(Pestorić, 2011)**.

Polazište u sprovođenju senzorskog ispitivanja je u definisanju svrhe ili cilja planiranog ispitivanja. Metodi senzorske analize mogu se podeliti na objektivne (analitički – diskriminatorni i deskriptivni testovi) i subjektivne (afektivni) **(Stone i Sidel, 2004)**. Za potrebe ove doktorske disertacije, primenjeni su objektivni testovi te će samo oni i biti definisani.

Diskriminatorni testovi se primenjuju kada je potrebno utvrditi da li između dva proizvoda postoji ili ne primetna razlika u osetu. Moguće je da se dva proizvoda međusobno razlikuju u pogledu hemijskog sastava usled delimičnih razlika u njihovim formulacijama, a da to ne prouzrokuje razlike u osetu, bar kod većine potrošača. Nadalje, kod razvoja i usavršavanja proizvoda, uobičajene su promene u okviru osnovnih i pomoćnih sirovina, te je u ovim slučajevima veoma poželjno da se zna kada proizvod postaje osetno različit u odnosu na neki kontrolni tretman sa kojim se sprovodi **(Lawless i Heymann, 2013)**. Upravo u ovim slučajevima diskriminatorni testovi su našli svoju veliku primenu kako u proizvodnim uslovima tako i u primenjenim istraživanjima. Osnovna karakteristika diskriminatornih testova je da se poređenjem *samo* utvrdi postojanje ili nepostojanje razlika u bilo kom pogledu (jedno odabrano svojstvo, ukupan senzorski profil, ukupan kvalitet, dopadljivost, itd.) između uzorka dva proizvoda koji se ispituju. Primenom ovih testova ne može se dobiti informacija o veličini i kvalitetu tih razlika.

Deskriptivni testovi se primenjuju kada je potrebno sprovesti karakterisanje senzorskih osobina proizvoda (senzorsko profilisanje), merenje njihovog intenziteta i redosleda pojavljivanja tokom vremena, ili za opisivanje i merenje veličine razlike u senzorskim osobinama između proizvoda. Podaci dobijeni ovim testovima, u kombinaciji sa rezultatima potrošačkih (subjektivnih) testova, pružaju uvid u senzorska svojstva koja su ključna za dopadljivost nekog proizvoda, dok u kombinaciji sa rezultatima instrumentalnih merenja i recepturom proizvoda pružaju uvid u hemijske i fizičke komponente odgovorne za postizanje dobijenih senzorskih osobina **(Škrobot, 2016)**.



### 3. Cilj rada

Proizvodi na bazi žita su svakodnevno prisutni u velikim količinama u ishrani ljudske populacije. Dosadašnja istraživanja vezana za razvoj novih pekarskih i konditorskih proizvoda usmerena su ka supstituciji dela belog pšeničnog brašna pšeničnim integralnim brašnom, ili nekim drugim žitaricama u cilju dobijanja novih zdravstveno efikasnih proizvoda. Prehrambena vlakna žita imaju izuzetnu važnost u normalnom odvijanju metabolizma u organizmu čoveka. Savremeni koncept ishrane treba da bude usmeren na korišćenje hrane u funkciji poboljšanja opšteg zdravstvenog stanja.

Pored zdravstvene efikasnosti važna je i zdravstvena bezbednost proizvoda. Zdrava zrna žitarica imaju svoju prirodnu zaštitu, dok su njihovi mlinski proizvodi direktno izloženi potencijalnom uticaju mikroorganizama. Plesni su vodeći kontaminanti žita i proizvoda na bazi žita. Mnoge vrste plesni koje se izoluju sa žita i proizvoda na bazi žita mogu da proizvode i brojne sekundarne metabolite, mikotoksine, toksične za ljude i za životinje.

Rast plesni na pekarskim proizvodima predstavlja ozbiljan problem koji ograničava rok trajanja mnogih proizvoda sa visokim i srednjim sadržajem vlage. S druge, strane kvarenje pekarskih proizvoda plesnima dovodi do velikih ekonomskih gubitaka. S obzirom da je plesnivost pekarskih proizvoda ozbiljan i skup problem za pekare, neophodna je upotreba konzervanasa sa ciljem sprečavanja kvara i osiguranja bezbednosti proizvoda. Međutim, u poslednje vreme sve su veći zahtevi da se maksimalno smanji upotreba sintetičkih konzervanasa.

Jedan od razvojnih pravaca na polju zaštite hrane od rasta mikroorganizama predstavlja primena antimikrobnih agenasa prirodnog porekla kao zamena za sintetičke konzervanse u industrijskoj proizvodnji hrane.

S toga, cilj ove doktorske disertacije bio je da se ispita mogućnost primene prirodnih antimikrobnih agenasa, kao što su etarska ulja lekovitih i začinskih biljaka u antifungalnoj zaštiti pekarskog proizvoda povišenog sadržaja vlage.

Radi ostvarenja ovog cilja istraživanja su sprovedena u pet faza:

- Prva faza je obuhvatila određivanje stepena mikološke kontaminacije žita i brašna od žita koja su korišćena za proizvodnju pekarskog proizvoda povišenog sadržaja vlage sa taksonomskom identifikacijom izolovanih vrsta plesni.
- U drugoj fazi je ispitana antifungalna aktivnost etarskih ulja lekovitih i začinskih biljaka na odabrane izolate plesni.
- U trećoj fazi je ispitan uticaj etarskih ulja na mikološki sastav pekarskog proizvoda povišenog sadržaja vlage.
- U četvrtoj fazi je ispitan uticaj etarskih ulja na senzorski kvalitet pekarskog proizvoda povišenog sadržaja vlage.
- Peta faza je obuhvatala ispitivanje uticaja etarskih ulja na mikološku bezbednost i trajnost pekarskog proizvoda povišenog sadržaja vlage.

## 4. Materijal i metode rada

Eksperimentalni deo doktorske disertacije urađen je u Laboratoriji za tehnologiju, kvalitet i bezbednost hrane (FINSLab) Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu (FINS) i u proizvodnom prostoru kompanije „EKOMIL“ DOO, pekara „Rustik“, Bačka Palanka.

### 4.1. Materijal

#### 4.1.1. Eksperimentalni uzorci

Za proizvodnju testanih kora korišćena su brašna dobijena mlevenjem tri vrste komercijalnih žitarica: pšenica, heljda i kukuruz (Mlin DEM doo, Kulpin).

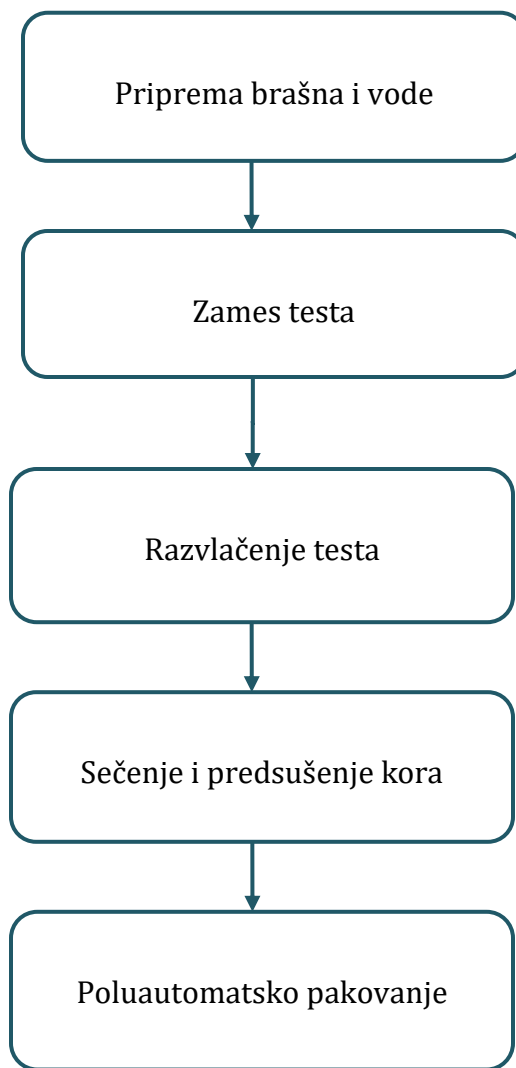
Mlevenjem odabranih žitarica dobijene su četiri vrste brašna: pšenično brašno tip 500, pšenično integralno brašno, heljdino integralno brašno i kukuruzno integralno brašno. Mlevenje žitarica obavljeno je u proizvodnom pogonu Mlin DEM doo, Kulpin.

Za antifungalna ispitivanja korišćena su komercijalna etarska ulja mente (*Mentha piperita* L.), kima (*Carum carvi* L.) i ruzmarina (*Rosmarinus officinalis* L.) (**Herba oil, Beograd, Srbija**).

#### 4.1.2. Proizvodnja testanih kora

Proizvodnja testanih kora sprovedena je u nekoliko faza (Slika 4.1). U prvoj fazi pripremljenom brašnu dodata je voda u količini potrebnoj za postizanje odgovarajuće konzistencije testa za razvlačenje. Zames, odnosno formiranje testa odvijalo se u standardnoj pekarskoj mesilic (KEMPER SP 30) 8 minuta na prvoj brzini i 4 minuta na drugoj brzini (Slika 4.2.). Pripremljeno testo se nakon zamesa „odmaralo“ 20 do 30 minuta. Nakon toga testo je stavljeno u uređaj za razvlačenje testa (MATEKS MAKINA) (Slika 4.3.). Nakon ekstrudiranja na transportnu traku je izlazilo razvučeno testo u obliku trake (Slika

4.4.). Razvučeno testo je sečeno na dužinu od 50 cm. Debljina testanih kora je iznosila 0,23 mm. Nakon ekstrudiranja i sečenja izvedeno je kratko predušenje ventilatorima pri temperaturi 24°C u trajanju do 5 minuta. Posle predušenja izvršeno je formatizovanje pri čemu su formirane testane kore isečene na manje delove čija je masa bila ca 100g (Slika 4.5.). Pakovanje pripremljenih testanih kora izvedeno je poluautomatski uz upotrebu polipropilenske ambalaže u aerobnim uslovima.



**Slika 4.1.** Šematski prikaz tehnološkog postupka proizvodnje testanih kora



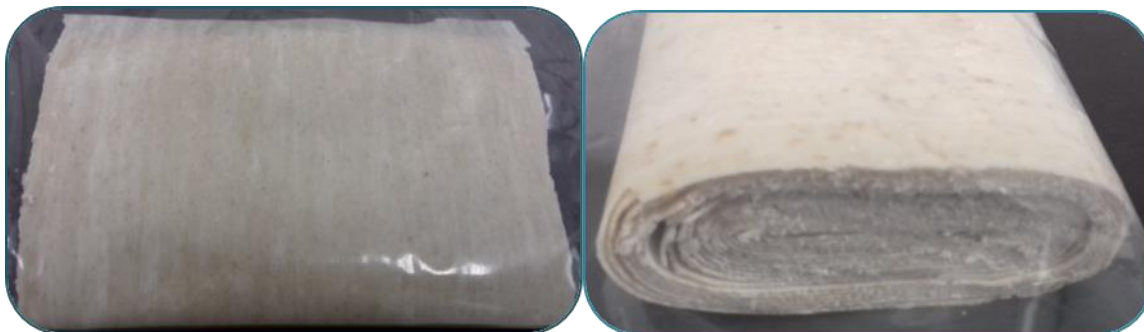
**Slika 4.2.** Pekarska mesilica



**Slika 4.3.** Uređaj za razvlačenje



**Slika 4.4.** Razvučeno testo na transportnoj traci



**Slika 4.5.** Formatizovana upakovana testana kora

Za ispitivanja uticaja etarskih ulja lekovitih i začinskih biljaka u antifungalnoj zaštiti testanih kora, polazeći od osnovnog sirovinskog sastava testanih kora (pšenično brašno tip 500 i voda), 10% pšeničnog brašna tip 500 zamenjeno je pšeničnim integralnim, heljdinim integralnim i kukuruznim integralnim brašnom, pri čemu su pripremljena četiri uzorka testanih kora::

- Testane kore od pšeničnog belog brašna tip 500 (PBB)
- Testane kore sa 10% pšeničnog integralnog brašna (PIB)
- Testane kore sa 10% heljdinog integralnog brašna (HIB)
- Testane kore sa 10% kukuruznog integralnog brašna (KIB)

Formirane testane kore mase ca 100 g pakovane su u aerobnim uslovima u polipropilensku ambalažu. U momentu pakovanja u aseptičkim uslovima dodata su etarska ulja mente, kima i ruzmarina. Količine etarskih ulja za ispitivanje antifungalne zaštite testanih kora utvrđene su na osnovu dobijenih rezultata antifungalne aktivnosti etarskih ulja na odabrane vrste plesni za vrednosti 0,5 MIC, 1 MIC i 1,5 MIC. Uzorci pripremljenih testanih kora su u roku od 1h transportovani u laboratoriju na Odeljenje za mikrobiološke analize, Laboratorije za tehnologiju, kvalitet i bezbednost hrane (FISLab), Naučnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu. Uzorci su skladišteni u inkubatoru sa hlađenjem (**Velp Scientifica, Italija**) pri kontrolisanoj temperaturi od 8°C tokom 5, 7 14 i 21 dan.

Za analizu prisusutva plesni (određivanje ukupnog broja, izolacija i identifikacija vrsta, zastupljenost rodova i vrsta) i ispitivanje roka održivosti testanih kora sa dodatkom

etarskih ulja korišćene su četiri vrste kora sa dodatkom tri vrste etarskih ulja (menta, kim i ruzmarin) u tri koncentracije (0,5 MIC, 1 MIC i 1,5 MIC) pri čemu su ispitivanja sprovedena na formiranim uzorcima testanih kora na dan proizvodnje i nakon 5, 7, 14 i 21 dan.

### 4.1.3. Mikološke podloge i hemikalije

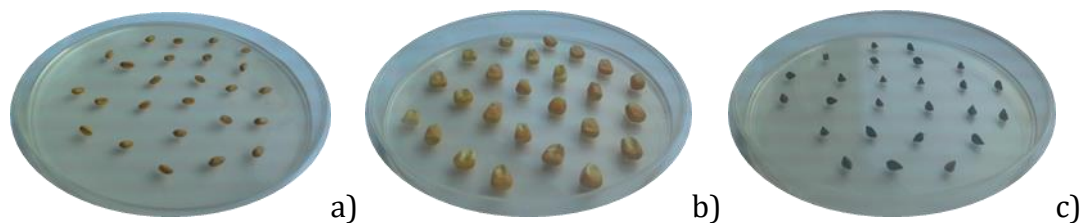
U antifungalnim ispitivanjima su korišćene sledeće mikološke podloge: Dihloran 18% glicerol agar (DG18), Sladni ekstrakt sa ekstraktom kvasca 50% glukoza agar (MY50G), Czapek kvasac ekstrakt agar (CYA), Sladni ekstrakt agar (MEA), krompir dekstrozni agar (PDA), Sabouraud dekstrozni agar (SDA), Sabouraud dekstrozni bujon (SDB). Podloge DG18, PDA, SDA i SDB, komponente (ekstrakt slada, ekstrakt kvasca, pepton, glukoza, saharoza i agar) za pripremu MY50G, CYA i MEA i Tween 80 bili su proizvođača **Himedia (Mumbai, Indija)**. Sastav podloga dat je u Prilogu 1. Jedinjenja  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , KCl,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaHCO}_3$ , NaCl bili su proizvođača **Centrohema (Stara Pazova, Srbija)**.

## 4.2. Metode

### 4.2.1. Mikološke metode

#### 4.2.1.1. Izolovanje i određivanje ukupnog broja plesni

Ukupan broj plesni pšenice, kukuruza i heljde određivan je metodom direktne inokulacije po 100 zrna (25 zrna/Petri ploči Ø14 mm) na podlozi DG18. Uzorci žitarica prethodno su površinski dezinfikovani u rastvoru natrijum-hipohlorita koncentracije 0,35% tokom kontaktnog vremena od 2 minuta. Nakon toga su isprani sterilnom destilovanom vodom, osušeni na sterilnom papiru i zatim postavljeni na površinu čvrste podloge DG18 (**SRPS ISO 21527-2, 2011**) (Slika 4.6.).



**Slika 4.6.** Zrna žitarica plasirana na površini DG18 podloge: a) pšenica, b) kukuruz i c) heljda

Ukupan broj plesni brašna tip 500, integralnog pšeničnog, integralnog heljadinog i integralnog kukuruznog i testanih kora određivan je metodom razređenja po Koch-u (**Krakašević i sar., 1977**). Za pripremu razređenja korišćen je 0,1% sterilni rastvor peptonske vode.

Izolovanje i određivanje ukupnog broja plesni uzoraka brašna izvedeno je na dve podloge i to:

- DG18 je korišćen za izolovanje kserotolerantnih plesni (*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Eurotium* spp.) koje rastu pri  $a_w < 0,90$  (**Samson i sar., 2004; Pitt i Hocking, 2009**).
- MY50G je korišćen za izolovanje izrazito kserofilnih plesni koje rastu pri  $a_w < 0,70$  (**Samson i sar., 2004; Pitt i Hocking, 2009**).

Ove podloge (DG18 i MY50G) zbog redukovane  $a_w$  pogodne su za kvalitativno i kvantitativno određivanje kserofilnih vrsta plesni.

Izolovanje i određivanje ukupnog broja plesni uzoraka testanih kora izvedeno je na podlozi DG18. Zasejane podloge su inkubirane na 25°C, 5 i 7 dana.

#### 4.2.1.2. Identifikacija plesni

Nakon određivanja ukupnog broja plesni izvršeno je njihovo monokultivisanje na podloge za identifikaciju. Na osnovu makromorfoloških svojstava kolonija plesni izvršeno je monokultivisanje na Czapek kvasac ekstrakt agar (CYA), sladni ekstrakt agar (MEA) i krompirov dekstrozni agar (PDA).

Kolonije za koje se na osnovu makromorfoloških svojstava pretpostavilo da su *Penicillium* spp. i *Aspergillus* spp. presejane su na CYA agar.

Na MEA podlogu presejane su kolonije za koje se na osnovu makromorfoloških karakteristika pretpostavilo da su *Alternaria* spp., *Cladosporium* spp., *Chrysonilia* spp., *Rhizopus* spp. i *Scopulariopsis* spp. Zasejane podloge inkubirane su 7 dana pri 25°C.

Izolati za koje se pretpostavilo da pripadaju rodu *Fusarium* gajeni su na PDA radi dobijanja monospornih kultura. Kulture su inkubirane 7-14 dana pri cikličnom režimu 12 h svetlosti i 12 h mrak na 25°C zbog stimulisivanja formiranja konidiogenih struktura.



Identifikacija izolovanih vrsta plesni izvedena je prema ključevima koji su opisani od strane **Samson i sar. (2004)**, **Samson i Frisvad (2004)** i **Pitt i Hocking (2009)**, na osnovu makromorfoloških karakteristika kolonija (veličina, oblik, boja, površina, rub, naličje i produkcija eksudata) i mikromorfoloških karakteristika reproduktivnih struktura (veličina, oblik, boja, površina ćelijskog zida, grananje, polne i bespolne strukture).

## 4.2.2. Ispitivanje antifungalne aktivnosti etarskih ulja lekovitih i začinskih biljaka

### 4.2.2.1. Kulture plesni

Za antifungalna ispitivanja odabrano je 11 vrsta plesni izolovanih iz ispitivanih uzoraka žitarica i brašna od žitarica i to: *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium proliferatum*, *F. sporotrichioides*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. expansum* i *P. oxalicum*. Prilikom odabira izolata razmatrano je koje su vrste plesni izolovane iz brašna bile su izolovane i sa žitarica. Takođe, prilikom odabira izolata uzeto je u razmatranje koje su vrste plesni izolovane iz brašna potencijalno toksigene.

### 4.2.2.2. Priprema suspenzija konidija plesni

Za pripremu suspenzija konidija plesni korišćene su sedmodnevne kulture gajene na kosom SDA na temperaturi od 25 °C. Suspenzije konidija su pripremane u fiziološkom rastvoru koji je sadržavao 0,1% Tween 80. Korišćenjem hemocitometra (Burker Turk komora) (**Precise, Peillonex, France**) podešavana je koncentracija od 10<sup>6</sup> konidija/ml.

### 4.2.2.3. Bujon mikrodiluciona metoda

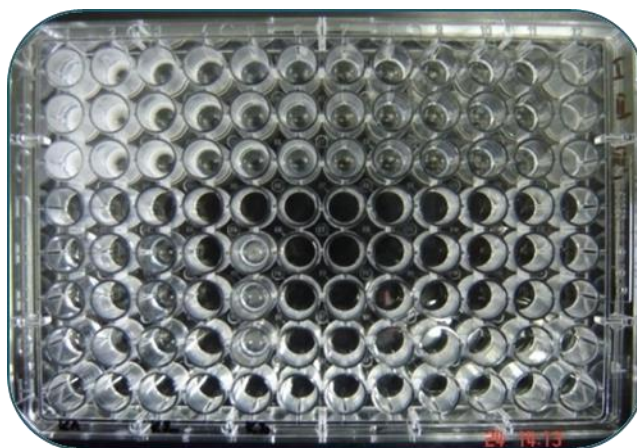
Određivanje minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) i minimalne fungicidne koncentracije (MFC) izvedeno je bujon mikrodilucionom metodom (**Marcello i sar., 2003; Barbour i sar., 2004**) korišćenjem mikrotitar ploča sa 96 bunarčića (Slika 4.7.).

U bunarčiće mikrotitar ploča mikropipetom je nalivano po 100 µl SDB. Nakon nalivanja bunarčića odgovarajućim bujonom, u prvi bunarčić dodato je 100 µl etarskog ulja i dobro izmešano. Serijskim prenošenjem po 100 µl, počev od prvog bunarčića redom do poslednjeg, početna koncentracija etarskog ulja je serijski dvostruko razblaživana. Iz

poslednjeg bunarčića nakon homogenizacije sadržaja odbačeno je 100 µl. Inokulisanje je izvedeno dodavanjem u svaki bunarčić po 10 µl pripremljene suspenzije konidija koncentracije 10<sup>6</sup>/ml. Dobijene koncentracije etarskog ulja iznosile su 454,5; 227,2; 113,6; 56,8; 28,4; 14,2; 7,1; 3,5; 1,7; 0,8; 0,4 i 0,2 µl/ml. Pripremane su tri kontrole: K1–100 µl SDB sa 0,1% Tween 80, K2–100 µl SDB sa 0,1% Tween 80 i 10µl inokuluma test izolata i K3–100 µl SDB i 0,1% Tween 80 i 100 µl etarskog ulja. Pripremljene mikrotitar ploče su inkubirane na 25<sup>o</sup>C , tokom 72 h.

MIC je određen kao najniža koncentracija etarskog ulja u bunarčiću, pri kojoj nije bilo vidljivog rasta plesni (odsustvo zamućenja) nakon određenog vremena inkubiranja.

Za određivanje MFC, iz bunarčića u kojima nije bilo vidljivog rasta, 10µl sadržaja je inokulisano na površinu SMA. Najniža koncentracija etarskog ulja koja je pokazivala potpuno odsustvo rasta mikroorganizma na SDA nakon inkubiranja označena je kao MFC.



**Slika 4.7.** Mikrotitar ploča pripremljena za inkubiranje

Stopa inhibicije određena je za vrednosti MIC na osnovu razlike u broju izraslih kolonija u odnosu na kontrolu suspenzije plesni koncentracije 10<sup>6</sup>konidija/ml prema formuli:

$$I(\%) = \frac{(C-U)}{C} \times 100$$

I-procentat inhibicije izolata

C-log cfu/ml kontrole

U-log cfu/ml uzorka pri vrednosti MIC

### 4.2.3. Hemijske metode

#### 4.2.3.1. Određivanje hemijskog sastava etarskih ulja

Gasnom hromatografijom sa masenom spektrometrijom (GC/MS) je određen hemijski sastav etarskih ulja. GC/MS je izvedena korišćenjem Agilent 5975C Series GC-MSD sistem (**Agilent Technologies, Santa Clara, USA**) (7890A GC and 5975C inert MSD) koji radi u režimu EI 70eV opremljen sa HP-5MS kolonom (**Agilent Technologies, Santa Clara, USA**) (30m × 0,25mm, debljina filma 0,25µm).

GC-MSD metoda koja je korišćena za analizu je modifikovana metoda prema **Mimica-Dukić i sar. (2003)**. 1 µl razblaženog etarskog ulja svakog uzorka (100 x razređen u n-heptanu) ubrizgavano je u beskrajni mod, a ulazna temperatura je držana na 250°C. Kao gas nosač korišćen je helijum (1ml/min). Temperatura kolone je programirana na sledeći način: 70°C podignuto na 104°C (2°C/min) i održava se 2 min, a zatim se podiže na 180°C (2°C/min) i ne drži se i konačno se podigne 200°C (4°C/min) i drži se 10 min. Maseni spektri snimani su u režimu skeniranja u opsegu od 40-400 m/z, sa temperaturama jonskog izvora i prenosa na 230 i 280°C.

Identifikacija pojedinačnih komponenti etarskog ulja je izvedena poređenjem njihovih Kovač indeksa, retencionih vremena dobijenih masenih spektara sa NIST05/Adams bibliotekom i literaturom (**Adams, 1995**). ChemStation softver (**Agilent Technologies, Santa Clara, USA**) korišćen je za analizu podataka, a krive koje su korišćene za eksperimentalnu procenu Kovač indeksa nacrtane su korišćenjem SciDaVis (<http://scidavis.sourceforge.net/>) softvera. U prilogu(2-4) prikazani su hromatogrami etarskog ulja mente, kima i ruzmarina.

#### 4.2.3.2. Određivanje $a_w$ vrednosti

Određivanje  $a_w$  vrednost uzoraka brašna i testanih kora izvedeno je pomoću  $a_w$ -metra Testo 650 (**Testo AG, Sparta, NJ, SAD**) (Slika 4.8.), koji se sastoji iz sonde, merne ćelije i plastične merne posude. Postupak se zasniva na homogenizaciji uzoraka i punjenju merne posude do 2/3 ukupne zapremine. Nakon toga se postavlja merni deo sonde u posudu i meri se na sobnoj temperaturi do uspostavljanja ravnotežnog stanja aktivnosti

vode. Merenje se zasniva na očitavanju vrednosti na displeju uređaja. Merenja su izvedena u triplikatu.



Slika 4.8.  $a_w$  metar Testo 650

#### 4.2.3.3. Određivanje sadržaja vlage i kiselinskog stepena testanih kora

Sadržaj vlage (metoda 3.5) i kiselinski stepen (metoda 3.6) testanih kora određeni su u skladu sa Pravilnikom o metodama fizičkih i hemijskih analiza za kontrolu kvaliteta žita, mlinskih i pekarskih proizvoda, testenina i brzo smrznutog testa, **(Službeni list SFRJ, 74/88)**.

#### 4.2.5. Senzorska ocena testanih kora

##### 4.2.5.1. Priprema, prezentacija i distribucija uzoraka članovima panela

Senzorska ocena uzoraka kora za pitu sprovedena je u Laboratoriji za senzorske i tehničke analize FINSLab-a, koja je opremljena u skladu sa važećim standardom **(ISO 8589:2007)** i koja je pod konstantnim i kontrolisanim uslovima temperature, vlage, buke i mirisa, a sve u cilju smanjenja uticaja psiholoških činilaca na sposobnosti rada ocenjivača. Ocenjivačima su uzorci kora za pitu dostavljani u zasebne kabine, u kojima se pored uzoraka nalazio i pribor za ocenjivanje (ocenjivački list, pribor za pisanje, tacna, ubrus) i čaša sa destilovanom vodom za ispiranje usta između dva uzastopna uzorka.

Uzorci testanih kora dostavljani su nasumično, svim ocenjivačima u isto vreme i bili su označeni nasumično odabranim trocifrenim šiframa, što je sa jedne strane obezbedilo

identifikaciju i sledljivost rezultata ocenjivanja, a sa druge strane omogućilo da se izbegne pristrasnost do koje bi moglo doći ukoliko bi ocenjivači spoznali identitet uzorka. Dešifracija uzoraka bila je poznata samo osobi koja je rukovodila senzorskim ocenjivanjem. Uzorci kora za pitu (oko 20 g/ocenjivaču) distribuirani su u plastičnim providnim posudicama sa poklopcem kako bi se što bolje očuvala svojstva proizvoda.

#### 4.2.5.2. Senzorska analiza testanih kora - deskriptivna metoda

U cilju određivanja senzorskog kvaliteta uzoraka kora), sprovedena je objektivna senzorska ocena uz primenu panela utreniranih ocenjivača (8 ocenjivača, 6 žena i 2 muškarca) odeljenja za senzorske i tehničke analize u okviru FINSLab akreditovane laboratorije. Panel utreniranih ocenjivača formiran je u skladu sa odgovarajućim standardima (**ISO 6658:2005; SRPS EN ISO 8586:2015; SRPS ISO 3972:2011; SRPS ISO 5496:2014; SRPS ISO 11036:2002; SRPS ISO 11037:2013**).

Odabir senzorskih svojstva testanih kora prethodno je utvrđen od strane vođe panela i usaglašavan sa članovima panela. Konačna lista sastojala se od 10 deskriptora: dva za izgled kora (intenzitet boje i ujednačenost boje), dva za ukus (strani ukus, ukus na testo), jedan za miris (strani miris) i pet deskriptora za definisanje teksturnih svojstava (površinska hrapavost, veličina čestica, vlažnost, lepljivost i elastičnost). Intenzitet ocenjivanih svojstava iskazivan je na skali intenziteta od 10 cm, pri čemu se levi kraj skale odnosi na nizak intenzitet/odsustvo svojstva, a desni na najviši mogući intenzitet svojstva. Spisak senzorskih svojstava sa definicijama i krajnjim podeocima na skali prikazani su u Tabeli 4.6.

**Tabela 4.6.** Spisak senzorskih svojstava kora za pitu sa definicijama i krajnjim podeocima na skali

Senzorsko svojstvo	Definicija	Krajnji podeoci na skali
<i>Izgled</i>		
Intenzite bež boje	Intenzitet ili jačina bež boje od svetle do tamne.	Svetlo–Tamno
Ujednačenost boje	Ujednačena distribucija boje (nije razmazana).	Neujednačeno–Ujednačeno
<i>Aroma</i>		
Aroma na dodate žitarice	Aroma koja potiče iz različitih vrsta žitarica.	Slaba–Izražena

Senzorsko svojstvo	Definicija	Krajnji podeoci na skali
Aroma na testo	Aroma povezana sa sirovim testom.	Slaba–Izražena
<i>Miris</i>		
Miris na dodate žitarice	Miris koji potiče iz različitih vrsta žitarica.	Slab–Intenzivan
<i>Tekstura</i>		
Površinska hrapavost	Zastupljenost nepravilnih čestica, zrna, izbočina, grudvica i sl. koji su vidljivi na površini proizvoda i osete se pod prstima.	Glatka–Hrapava
Veličina čestica	Relativna veličina čestica u uzorku.	Male–Velike
Vlažnost	Količina vlage koja se oseti pod prstima prilikom manipulacije sa uzorkom.	Suvo–Vlažno
Lepljivost	Međusobna slepljenost pojedinačnih listova kora.	Mala–Potpuna
Elastičnost	Stepen do kojeg se deformisani proizvod vraća u prvobitno stanje posle uklanjanja sile deformacije.	Bespovratna deformacija–Veoma elastično

#### 4.2.5.3. Određivanje mirisa testanih kora – test trougla

Test trougla (triangl test) sproveden je sa ciljem da se utvrdi postojanje razlike u mirisu između kontrolnog uzorka i uzoraka testanih kora koji su sadržali različite koncentracije odabranih etarskih ulja. Poređenja testanih kora su sprovedena u okviru jedne vrste kora, odnosno između kontrolnog uzorka i uzoraka sa dodatkom etarskog ulja. Unakrsna poređenja uzoraka dobijenih od različitih vrsta pšeničnog brašna nisu sprovedena.

U testu trougla učestvovalo je 17 polutreniranih ocenjivača, angažovanih među zaposlenima u Naučnom institutu za prehrambene tehnologije, Novi Sad. Svakom ocenjivaču serviran je set koji se sastojao od tri šifrirana uzorka među kojima su dva identična, a treći različit. Zadatak ocenjivača je bio da oceni uzorke, redosledom sa leva na desno, i da izdvoji uzorak za koji smatra da se po mirisu razlikuje od prethodna dva. Ispitivanja su sprovedena u dva dana, a svaki ocenjivač je ocenio devet nasumično odabranih triangl kombinacija po danu.

Prilikom realizacije senzorskog ispitivanja primenom diskriminatornih testova, kao ishod merenja javljaju se tačni i netačni odgovori. Kod svih diskriminatornih testova,

analiza i interpretacija rezultata ispitivanja zasniva se na prebrojavanju tačnih odgovora i testiranju polazne pretpostavke (nulta hipoteza) da između ispitivanih uzoraka nema razlike u osetu. Ovako postavljena hipoteza se testira u odnosu na alternativnu hipotezu koja pretpostavlja da se dva ispitivana uzorka razlikuju u osetu.

#### 4.2.6. Statistička analiza

Određivanje ukupnog broja plesni žitarica i brašna od žitarica, identifikacija izolovanih vrsta, a<sub>w</sub> brašna od žitarica i antifungalna ispitivanja izvedena su u triplikatima. MC Excel korišćen je za određivanje srednje vrednosti i standardne devijacije

##### 4.2.6.1. Statistička obrada podataka mikoloških i fizičko-hemijskih ispitivanja

Deskriptivna statistika se koristi za kvantitativno opisivanje ispitivanih osobina, tj. da bi se opisali podaci i sagledali njihovi uzajamni odnosi. Rezultati deskriptivne statistike su predstavljeni preko srednje vrednosti i standardne devijacije, a urađena su tri merenja po uzorku.

Za analizu značajnosti razlika među srednjim vrednostima analiziranih parametara korišćen je Takijev (Tukey) HSD test (Honestly Significant Distance, HSD) sa pragom značajnosti 0,05. Dobijene prosečne vrednosti koje se statistički značajno razlikuju obeležene su različitim slovima. Ukoliko je razlika dve srednje vrednosti veća od standardne devijacije (SD), prema Takijevom testu upućuje na statističku značajnost. Testiranjem podataka dobijenih različitim eksperimentalnim merenjima, utvrđeno je da je većina uzoraka statistički značajno različita na nivou  $p < 0,05$ . Ovim je dokazano da su ispitani uzorci dovoljno raznovrsni kako bi se pristupilo statističkoj analizi i matematičkom modelovanju (**Lončar, 2015**).

Deskriptivna statistička analiza, uz korišćenje softvera (software) Microsoft Excel 2007 i softverskog paketa Statistica version 12 (StatSoft Inc. 2012, USA)®, upotrebljena je za sva statistička i matematička izračunavanja u ovom istraživanju.

##### 4.2.6.2. Statistička obrada podataka senzorske ocene testanih kora

Rezultati su izraženi kao aritmetička sredina  $\pm$  standardna devijacija. Utvrđivanje statističke značajnosti razlika između aritmetičkih sredina u testu senzorskog profilisanja

sprovedeno je primenom analize varijanse (ANOVA) i Fisher LSD (Least Significance Difference) testa višestrukih poređenja sa pragom značajnosti 0,05.

Za testiranje postavljene nulte hipoteze u triangl testu korištena je statistička tablica dobijena primenom binomnog testa (**ISO 4120:2004**) (Tabela 4.7.).

**Tabela 4.7.** Minimalan broj tačnih odgovora potreban za utvrđivanje nivoa značajnosti uočenih razlika triangl testom prema ISO 4120:2004

n-broj analiza	ograničeno značajan $\alpha = 0,1$	značajan $\alpha = 0,05$	visoko značajan $\alpha = 0,01$	najviši nivo značajnosti $\alpha = 0,001$
6	5	5	6	-
7	5	5	6	7
8	5	6	7	8
9	6	6	7	8
10	6	7	8	9
11	7	7	8	10
12	7	8	9	10
13	8	8	9	11
14	8	9	10	11
15	8	9	10	12
16	9	9	11	12
17	9	10	11	13
18	10	10	12	13
19	10	11	12	14
20	10	11	13	14

U konkretnom slučaju sa triangl testom, iz odgovarajuće statističke tablice (Tabela 4.7.) očita se minimalan broj tačnih odgovora potreban za utvrđivanje nivoa značajnosti uočenih razlika triangl testom (za odgovarajući broj ocenjivača učesnika u testiranju i željeni nivo statističke značajnosti) i uporedi sa brojem tačno urađenih triangl testova. Ukoliko je broj tačnih odgovora dobijen realizacijom triangl testa jednak ili veći od tablične vrednosti, donosi se odluka o odbacivanju nulte hipoteze u korist alternativne i izvodi se zaključak da razlika u percepciji između ispitivanih proizvoda postoji. U suprotnom, kaže se da nema dovoljno dokaza da se odbaci nulta hipoteza i zaključuje se da se proizvodi ne razlikuju osetno.



## 5. Rezultati i diskusija

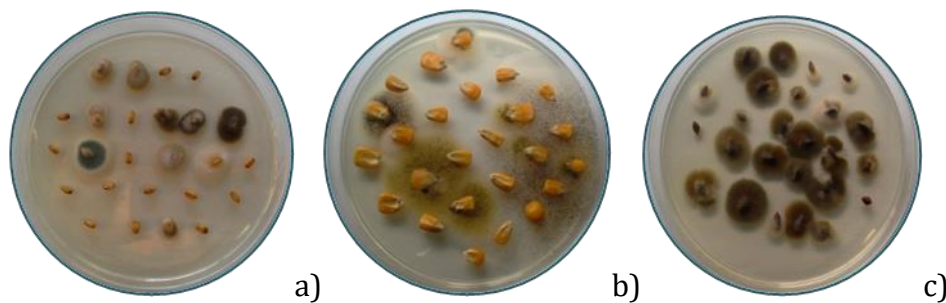
### 5.1. Ukupan broj plesni žita i brašna od žita

Ispitivanjem kontaminacije pšenice, kukuruza i heljde utvrđeno je prisustvo plesni u svim uzorcima. Ukupan broj plesni po zrnu žita kretao se od  $0,6 \pm 0,1$  cfu (pšenica) do  $1,2 \pm 0,1$  cfu (heljda) (Tabela 5.1., Slika 5.1.).

**Tabela 5.1.** Ukupan broj plesni u pšenici, kukuruзу i heljdi

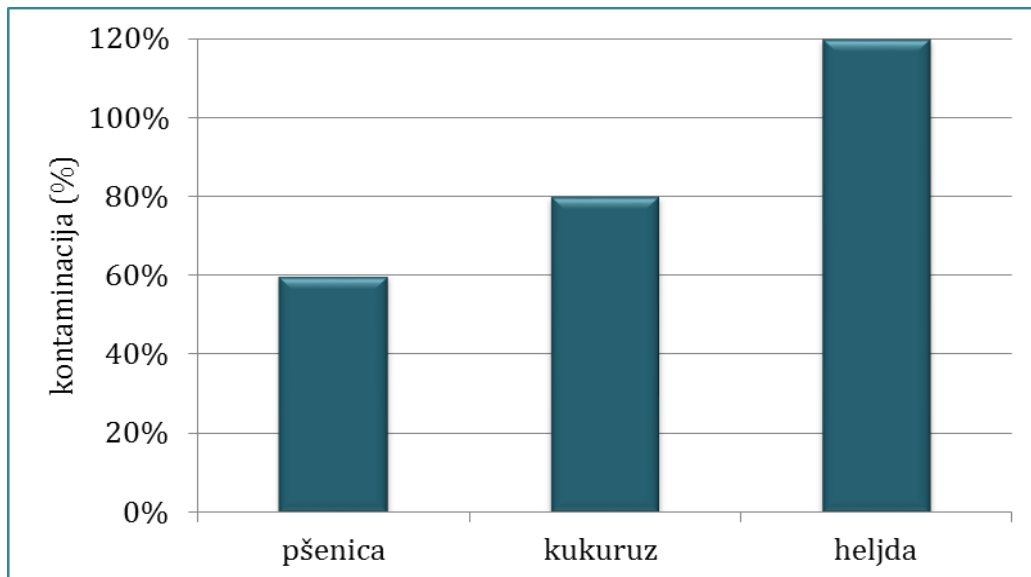
Uzorak	Ukupan broj plesni (cfu)
	Po zrnu
Pšenica	$0,6 \pm 0,1^*$
Kukuruz	$0,8 \pm 0,1$
Heljda	$1,2 \pm 0,1$

Legenda: \*-standardna devijacija



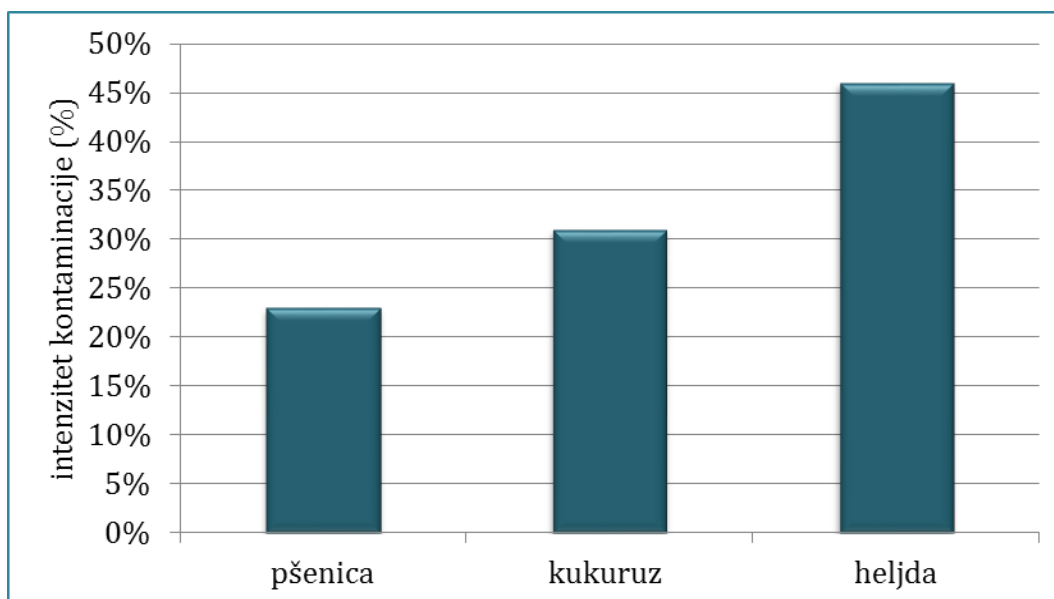
**Slika 5.1.** Ukupan broj plesni po zrnu uzorka na DG18 (25°C, 7 dana): a) pšenica, b) kukuruz i c) heljda

Najveći procenat kontaminacije plesnima po zrnu bio je utvrđen kod heljde (120%), zatim kod kukuruza (80%), dok je najniži procenat kontaminacije uočen kod pšenice (60%) (Slika 5.2.).



**Slika 5.2.** Procenat kontaminacije plesnima po zrnu žita

U proseku, mikopopulacija je bila najbrojnija kod zrna heljde (46%) (Slika 5.3.). Intenzitet kontaminacije zrna kukuruza (31%) i pšenice (23%) niži je od kontaminacije zrna heljde.



**Slika 5.3.** Intenzitet kontaminacije žita plesnima

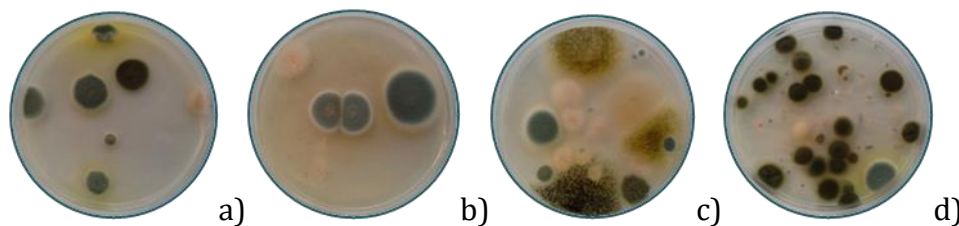
Ispitivanjem kontaminacije pšeničnog, kukuruznog i heljdinog brašna utvrđeno je prisustvo plesni u svim uzorcima (Tabela 5.2., Slika 5.4.)

**Tabela 5.2.** Ukupan broj plesni u pšeničnom, kukuruznom i heljdinom brašnu

Uzorak	Ukupan broj plesni (cfu/g)	
	DG18	MY50G
Pšenično brašno Tip 500	$6,0 \pm 1,0^* \times 10^1$	$3,0 \pm 0,6 \times 10^1$
Pšenično integralno brašno	$1,3 \pm 0,6 \times 10^2$	$4,0 \pm 0,6 \times 10^1$
Kukuruzno integralno brašno	$3,4 \pm 0,3 \times 10^2$	$2,7 \pm 0,6 \times 10^2$
Heljдино integralno brašno	$5,0 \pm 0,25 \times 10^2$	$3,0 \pm 0,6 \times 10^1$

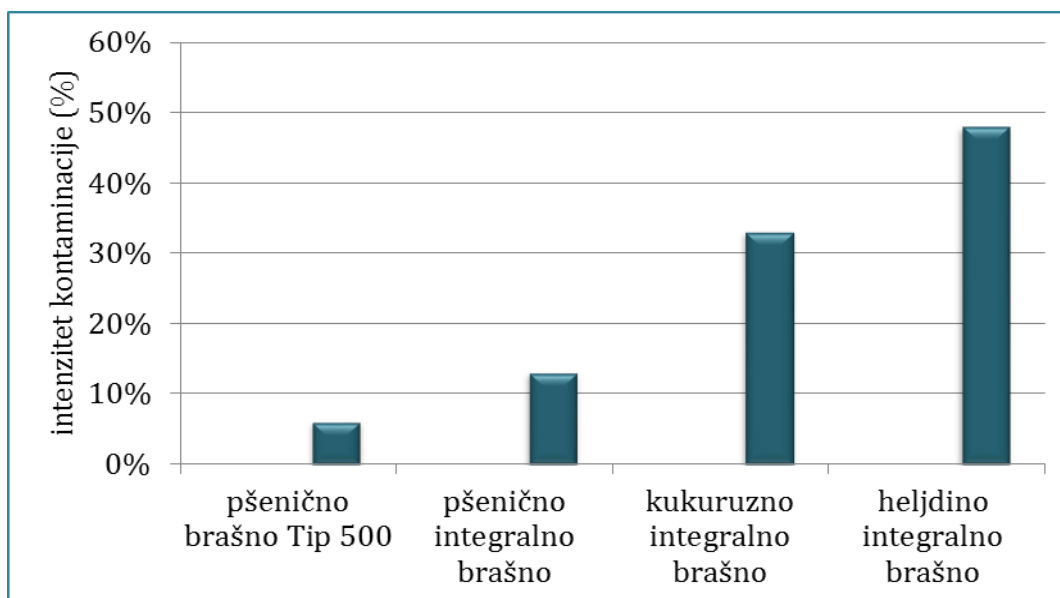
Legenda: \*-standardna devijacija

Ukupan broj plesni u 1 g brašna (Tabela 5.2.) na DG18 podlozi kretao se od  $6,0 \pm 1,0 \times 10^1$  cfu/g (pšenično brašno T 500) do  $5,0 \pm 0,25 \times 10^2$  cfu/g (heljдино integralno brašno). Na MY50G podlozi ukupan broj plesni kretao se od  $3,0 \pm 0,6 \times 10^1$  cfu/g (pšenično brašno Tip 500 i heljдино integralno brašno) do  $2,7 \pm 0,6 \times 10^2$  cfu/g (kukuruzno integralno brašno).



**Slika 5.4.** Ukupan broj plesni na DG18 (25°C, 7 dana): a) pšenično brašno Tip 500, b) pšenično integralno brašno, c) kukuruzno integralno brašno i d) heljдино integralno brašno

U proseku, mikopopulacija je bila najbrojnija kod uzorka heljdinog integralnog brašna (48%) (Slika 5.5.). Intenzitet kontaminacije kukuruznog (33%), pšeničnog integralnog (13%) i pšeničnog brašna Tip 500 (6%) niži je od kontaminacije heljdinog integralnog brašna.



**Slika 5.5.** Intenzitet kontaminacije brašna plesnima

Dobijeni rezultati su očekivani, s obzirom da se radi o heljdinom brašnu celog zrna, odnosno sa udelom omotača zrna. S obzirom na građu i izgled zrno heljde je pogodna sredina za nastanjivanje površinske mikropopulacije koja posle može biti prisutna i u samom brašnu. Razlog veće površinske kontaminacije zrna je prisustvo dlačica koje zadržavaju čestice prašine i mikroorganizme. Kukuruzno i pšenično brašno sadrže manji broj plesni, jer pre svega postoji razlika u mehaničkoj zaštiti zrna (celulozna ljuska kod klipa kukuruza i zaštitna plevica kao omotač kod zrna pšenice). Kada je u pitanju kontaminacija zrna kukuruza problem može nastati ukoliko je zrno oštećeno prilikom krunjenja, transporta, sušenja ili nekog drugog uzroka (prijem u unker silosa ili punjenje betonske ćelije silosa visine preko 20 m). Pšenično zrno se takođe mehanički ljušti i po potrebi transportuje i suši. Kontaminacija je moguća ako se zrno nakon ljuštenja ne obradi mehanički (oriba, očetka, aspiriše vazduhom itd.) ( **Žeželj, 1995; Stojanović i Psodorov, 2007** ).

**Čonkova i sar. (2006)** su saopštili rezultate mikološke kontaminacije pšenice odmah nakon žetve, pri čemu je ukupan broj plesni bio u intervalu od  $1,8 \times 10^2$  do  $2,7 \times 10^4$  cfu/g. Kontrolisani uslovi skladištenja, kao i postupci pripreme žitarica pre mlevenja mogu u znatnoj meri da smanje broj prisutnih plesni kao i sastav mikopopulacija. Prema

rezultatima ispitivanja **Demin (2007)** dokazano je da se višestrukom obradom zrna može smanjiti prisustvo plesni do te mere da ih na zrnu zaostane svega 21%, dok je većina nečistoća skoncentrisana u oribu I i oribu II. **Terzi i sar. (2014)** takođe ukazuju da se primenom odgovarajućih tehnoloških postupaka kojima se uklanjaju kontaminirana zrna može u značajnoj meri smanjiti sveukupna kontaminacija. Primenom uređaja za intenzivnu površinsku obradu zrna smanjuje se prisustvo štetnih materija, između ostalog i mikroorganizama i njihovih metabolita. Takođe i prema rezultatima ispitivanja **Doolotkeldieva (2010)** prilikom obrade zrna bez kvašenja došlo je do smanjenja fungalne kontaminacije skoro dva puta u poređenju sa zrnima žitarica pre postupka obrade.

**Riba i sar. (2008)** saopštili su rezultate mikološke kontaminacije uzoraka pšenice pre žetve, u toku skladištenja u silosima neočišćenje i pšenice koja je očišćenja od stranih primesa i nečistoća, kao i uzoraka brašna, griza i mekinja. Ukupan broj plesni kretao se od 275 cfu/g u uzorcima brašna do 1277 cfu/g kod pšenice skladištene u silosu tokom 12 meseci. Slične rezultate su objavili i **Berghofer i sar. (2003)** po kojima je fungalna kontaminacija pšenice i pšeničnih klica bila u intervalu od  $10^2$  do  $10^5$  cfu/g, a brašna i mekinja od  $10^2$  do  $10^3$  cfu/g. Prema ispitivanjima **Asadzadeh i sar. (2014)**, od 151 uzorka pšeničnog brašna kod 34 je utvrđeno prisustvo plesni u intervalu od  $10^2$  do  $10^4$  cfu/g. **Rezazadeh i sar. (2013)** su saopštili da je u 31,5 % uzoraka brašna kontaminacija plesnima bila veća od  $10^4$  cfu/g. Prema **Alborch i sar. (2012)** u uzorcima kukuruznog brašna utvrđeno je prisustvo plesni u intervalu od  $<10$  do  $8,8 \times 10^4$  cfu/g. **Demirel i Sariozlu (2013)** su ispitivali plesni u uzorcima brašna od različitih žitarica. Ukupan broj plesni bio je u rasponu od  $2 \times 10^4$  do  $4,8 \times 10^4$  cfu/g. Takođe, rezultati ovih autora pokazuju da je ukupan broj plesni kod uzoraka brašna od celog zrna žita prelazio vrednosti od  $1 \times 10^4$  cfu/g. Prema rezultatima ispitivanja **Halt i sar. (2004)** u 58 uzoraka pšeničnog brašna različitog mineralnog sastava ukupan broj plesni kretao se od 0 do  $12,3 \times 10^3$  cfu/g. Kako navodi **Plavšić (2015)** ukupan broj plesni u uzorcima heljadinog brašna kretao se u interval od  $2,7 \times 10^2$  do  $2,6 \times 10^4$  cfu/g, a u uzorcima kukuruznog brašna od 60 cfu/g do  $1,5 \times 10^3$  cfu/g. Rezultati su u skladu i sa ranijim istraživanjima **Plavšić i sar. (2007)** prema kojima je maksimalan broj plesni u uzorcima različitih tipova pšeničnog brašna bio  $1,5 \times 10^3$  cfu/g.

Kako još navode pomenuti autori, kod 54,05% uzoraka ukupan broj plesni bio je reda veličine do  $10^2$ cfu/g, što ukazuje na dobru higijensku praksu u proizvodnji.

## 5.2. Mikopopulacije žita i brašna od žita

### 5.2.1. Mikopopulacija žita

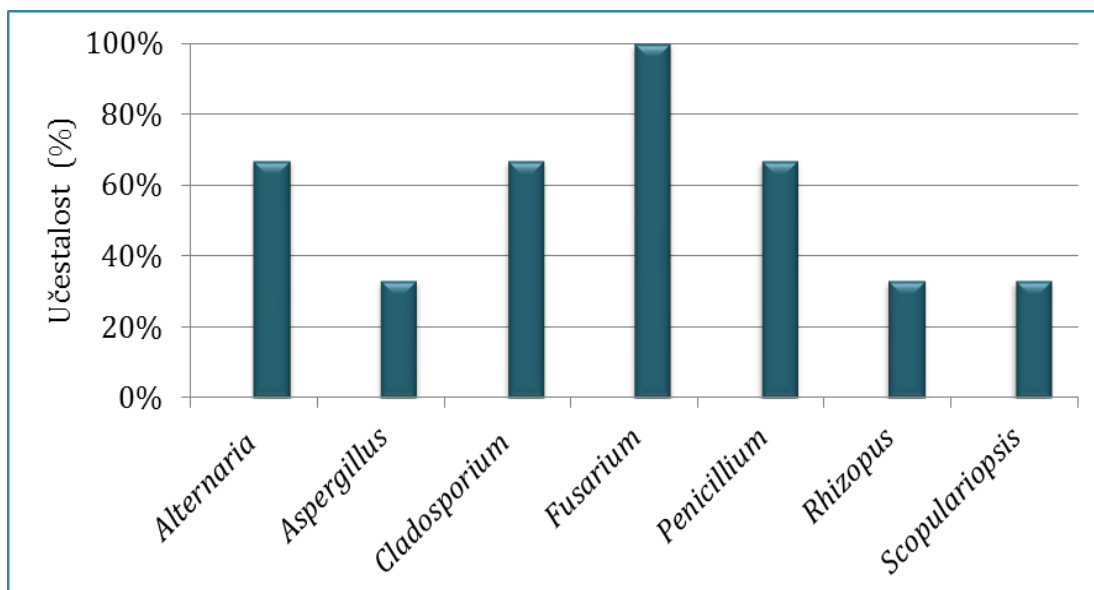
Iz ispitivanih uzoraka pšenice, kukuruza i heljde izolovane su brojne vrste plesni koje su svrstane u 7 rodova i 11 vrsta (Tabela 5.3.). Sa najviše vrsta bio je zastupljen rod *Penicillium* (3), zatim *Aspergillus* i *Fusarium* (2) i ostali sa po jednom vrstom.

**Tabela 5.3.** Vrste plesni izolovane iz uzoraka pšenice, kukuruza i heljde

Vrsta plesni	Uzorak		
	pšenica	kukuruz	heljda
<i>Alternaria alternata</i>	+		+
<i>Aspergillus flavus</i>		+	
<i>A. niger</i>		+	
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	+		+
<i>Fusarium proliferatum</i>	+	+	
<i>F. sporotrichioides</i>	+	+	+
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	+		
<i>P. expansum</i>	+		
<i>P. oxalicum</i>		+	
<i>Rhizopus stolonifer</i>		+	
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>			+

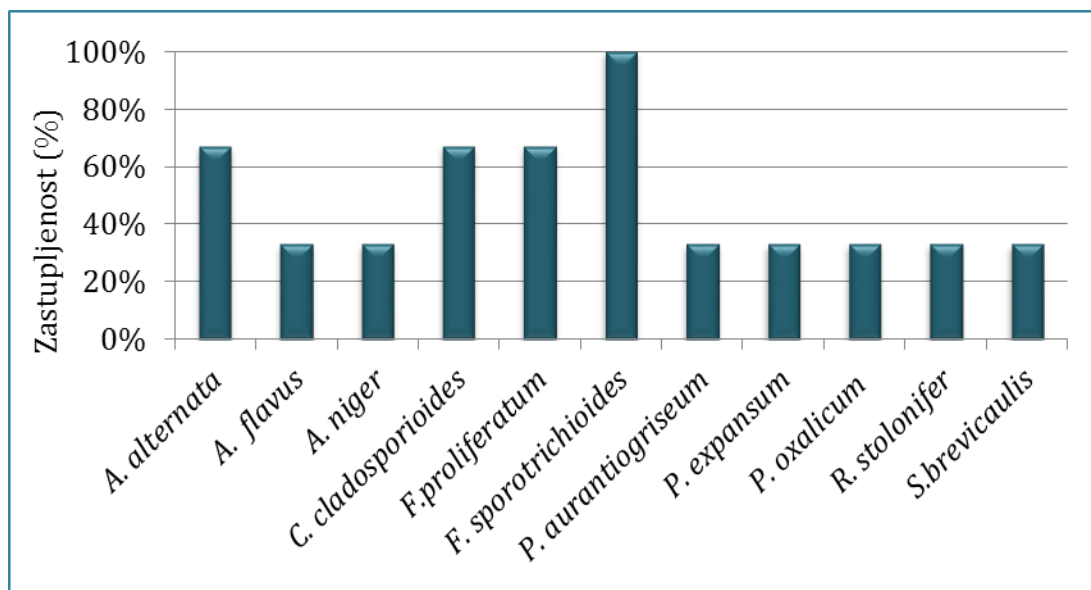
Legenda: + - prisustvo plesni u uzorku

Rod *Fusarium* bio je detektovan u sva 3 uzorka sa učestalošću od 100% (Slika 5.6.). Rod *Penicillium*, koji je činio najveći deo izolovane mikopopulacije po broju izolovanih vrsta, bio je detektovan u 2 uzorka sa učestalošću pojavljivanja od 67%. Rodovi *Alternaria* i *Cladosporium*, koji su bili zastupljeni sa po jednom vrstom, a detektovani su takođe u 2 uzorka sa istom učestalošću pojavljivanja kao i rod *Penicillium*. Ostali rodovi plesni *Aspergillus*, *Rhizopus* i *Scopulariopsis* detektovani su u po 1 uzorku i imali su učestalost pojavljivanja od 33%.



**Slika 5.6.** Učestalost pojavljivanja rodova plesni u uzorcima pšenice, kukuruza i heljde

Najzastupljenija vrsta bila je *F. sporotrichioides* (100%), zatim slede sa 67% zastupljenosti *A. alternata*, *C. cladosporioides* i *F. proliferatum*. Ostale vrste bile su zastupljene sa 33% (Slika 5.7.).



**Slika 5.7.** Zastupljenost vrsta plesni u uzorcima pšenice, kukuruza i heljde

Prema rezultatima ispitivanja **Joshaghani i sar. (2013)** najčešće izolovane vrste uskladištene pšenice bile su *Alternaria* vrste (26,7%), zatim *Aspergillus niger* (21,4%),

*Fusarium* vrste (17,8%), *Aspergillus flavus* (10,7%), *Cladosporium* (10,7%), *Penicillium* (8,9%) i *Rhizopus* vrste (3,5%). **Roige i sar. (2009)** navode da su *Penicillium* (42%), *Fusarium* (27%) i *Alternaria* (25%) bili najčešće izolovani rodovi na pšenici. **Riba i sar. (2008)** su saopštili da su *Penicillium*, *Alternaria*, *Mucor*, a posebno *Aspergillus* vrste najčešće bile izolovane iz alžirske pšenice. **Kolawole i sar. (2013)** ispitivali su mikopopulaciju pšenice nakon žetve koja je prisutna na tržištu Nigerije. Na osnovu rezultata analize 400 uzoraka pšenice uočeno je da su *Penicillium* vrste bile najdominantnije i izolovane su iz 90 uzoraka. Sledeća vrsta po zastupljenosti bila je *Aspergillus flavus* (70 uzoraka), zatim je *Fusarium solani* izolovan iz 63 uzorka, *Aspergillus niger* (50 uzoraka), *Aspergillus fumigatus* izolovan iz 48 uzoraka. *Rhizopus* vrste izolovane su iz 40 uzoraka, a *Alternaria* vrste iz 25 uzoraka pšenice. **Čonkova i sar. (2006)** ispitivali su mikopopulaciju pšenice nakon žetve sa lokaliteta Poljske i Slovačke. Prema njihovim saopštenjima, rodovi *Fusarium*, *Aspergillus* i *Penicillium* imali su najveću učestalost pojavljivanja. Prema pomenutim autorima na uzorcima pšenice iz Poljske izolovane su *Fusarium* vrste (95,5%), *Aspergillus* vrste (81,8%) i *Penicillium* vrste (72,3%). Na uzorcima pšenice iz Slovačke uočena je nešto niža kontaminacija vrstama *Fusarium* (70,5%), *Penicillium* (68,2%), *Aspergillus* (61,4%) i *Cladosporium* (45,55). Međutim, na pšenici iz Slovačke uočena je veća kontaminacija vrstama *Alternaria* (34,1%) i *Mucor* (27,35%) u odnosu na pšenicu iz Poljske (*Alternaria* vrste 22,7% i *Mucor* vrste 4,5%). Kako navode **Lević i sar. (2012)** *Fusarium verticillioides* i *Penicillium* vrste izolovane su iz semena kukuruza (100 i 92,3%, respektivno), dok su *Chaetomium* i *Rhizopus* vrste izolovane iz 38,5% uzoraka kukuruza. **Mahmoud i sar. (2013)** su saopštili da su u uzorcima žutog i belog kukuruza najzastupljenije bile *Aspergillus* vrste (90,28%) i to *A. flavus* (50,36%) i *A. niger* (40,28%). *Fusarium* vrste (86,25%) su bile prisutne sa tri vrste *F. oxysporum* (38,88%), *F. verticillioides* (31,95%) i *F. solani* (15,97%). Vrsta *Penicillium notatum* bila je zastupljena sa 71,01%, a *Alternaria alternata* sa 71,43%. **Odhiambo i sar. (2013)** su objavili da je iz kukuruza izolovano 10 različitih *Aspergillus* vrsta od kojih je najzastupljeniji bio *A. flavus* (78,5%), zatim *A. versicolor* (8%), *A. parasiticus* (3,4%), *A. clavatus* (2,3%), *A. sydowii* (2,3%), *A. fumigatus* (1,1%), *A. glaucus* (1,1%), *A. nidulans* (1,1%), *A. candidus* (0,6%) i *A. wentii* (0,6%). **Petrović i sar. (2010)** pratili su kontaminaciju kukuruza plesnima u toku tri godine (2006-2008). Od ukupnog broja ispitanih uzoraka kukuruza,



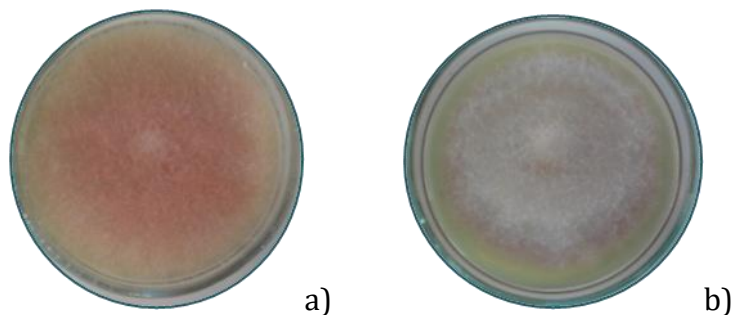
procenat zaraženih iznosio je 45% u 2006, 40% u 2007. i 32% u 2008 godini. Konstatovano je prisustvo plesni iz rodova *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* i *Rhizopus*. U uzorcima u kojima je konstatovano prisustvo plesni iz roda *Fusarium* procenat kontaminacije je iznosio od 0,25% do 5%, dok se procenat kontaminacije vrstama *Penicillium*, *Aspergillus* i *Rhizopus* kretao u granicama od 0,25% do 15%. Prosečna zastupljenost *Aspergillus* vrsta iznosila je 1,25% u 2006, 1,75% u 2007, a 1,5% u 2008 godini. Procenat kontaminacije vrstama *Penicillium* iznosio je 2% u 2006, 2,25% u 2007. i 1,75% u 2008. Najveći broj uzoraka bio je kontaminiran vrstama roda *Rhizopus* čiji je procenat u uzorcima u kojima je bio zabeležen iznosio 5,25% u 2006., 5,75% u 2007., a 6,75% u 2008. godine. Prema navodima **Shiju (2010)** mikopopulaciju uskladištene pšenice činili su rodovi *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladopsorium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus* i *Penicillium* vrste. Prisustvo navedenih vrsta plesni autor povezuje sa širokom rasprostranjenosti pomenutih rodova, sposobnosti rasta na svim mogućim podlogama i širokom opsegu temperatura i vlažnosti pri kojima im je omogućen rast. Pomenuti autor takođe je naveo da su najčešće prisutne vrste na uskladištenoj pšenici bile *Aspergillus niger*, *A. fumigates*, *Alternaria alternata*, *Fusarium moniliforme*, *Rhizopus arrhizus* i nekoliko *Penicillium* vrsta. Prema navodima **Birck i sar. (2006)** u 35 uzoraka pšenice skladištene u periodu od 180 dana prisustvo *Aspergillus* vrsta bilo je 100%, *Fusarium* vrste bile su prisutne u 80% uzoraka, a prisustvo *Penicillium* vrsta uočeno je kod 60% uzoraka. **Kolawole i sar. (2013)** objavili su rezultate mikoloških ispitivanja 400 uzoraka pšenice. Najzastupljenije bile su: *Penicillium* vrste izolovane kod 90 uzoraka, zatim *Aspergillus flavus* izolovan kod 70 uzoraka, *Fusarium solani* (63 uzorka), *A. niger* (50 uzoraka) i *A. fumigatus* (48 uzoraka). Vrste roda *Rhizopus* izolovane su kod 40 uzoraka, *Alternaria* vrste kod 25 uzoraka i *Trichoderma* vrste kod 14 uzoraka.

Rod *Fusarium* sadrži veći broj vrsta koje mogu prouzrokovati bolest semena, klijanaca, korena, stabla, klipa, klasa i zrna žitarica. *Fusarium* vrste iz semena za setvu mogu na više načina dospeti u kasnije obrazovano zrno odrasle biljke. To znači da se *Fusarium* vrste prenose iz semena u biljke i ponovo u seme (**Bacon i sar., 2001**). Prema sopštenjima **Tančić i sar. (2009)** u proseku, najveće smanjenje klijavosti je utvrđeno kod inokulacije semena suspenzijom spora *F. sporotrichioides* i *F. graminearum*, a zatim, približno isto, kod inokulacija semena sa *F. proliferatum* i *F. subglutinans*. Osim različitog

stepena patogenosti za određene biljne domaćine i smanjenja prinosa inficiranih biljaka, veliki broj vrsta roda *Fusarium* se razlikuje i po sposobnosti biosinteze mikotoksina. U Srbiji je utvrđeno da su vrste roda *Fusarium* poreklom iz zrna kukuruza i pšenice potencijalno značajni producenti mikotoksina, kao što su fumonizini, deoksinivalenol, zearalenoni, fuzaproliferin i/ili bovericin (Lević i sar., 2004, Bočarov-Stančić i sar., 2007; Bočarov-Stančić i sar., 2008; Bočarov-Stančić i sar., 2009; Stanković i sar., 2008a; Stanković i sar., 2008b).

*F. sporotrichioides* (Slika 5.8.a) je široko rasprostranjena u svetu kao kontaminant pšenice i kukuruza (Pitt i Hocking, 1997). Optimalna temperatura rasta kreće se u intervalu od 22,5 do 27,5 °C sa maksimumom od 35 °C (Domsch i sar., 1980). Joffe (1962) je izvestio da je zabeležen rast toksigenih izolata *F. sporotrichioides* na temperaturi od -2 °C. Schneider (1954) je objavio da je  $a_w$  0,88 minimalna vrednost za rast *F. sporotrichioides* posle osam nedelja inkubacije na 20 °C. *F. sporotrichioides* sintetiše više toksičnih jedinjenja kao što su T-2 toksin, deoksinivalenon, zearalenon (Samson i sar., 2004). Takođe sintetiše i brojne derivate toksina T-2 uključujući HT-2, T-2 triol T-2 tetraol (Thrane i sar., 2004; Abramson i sar., 2004; Pitt i Hocking, 1997; Desjardins, 2006; Leslie i Summerell, 2006).

*F. proliferatum* (Slika 5.8.b) je široko rasprostranjena vrsta roda *Fusarium*. Utvrđena je kao biljni patogen mnogih biljnih vrsta (Lević, 2008). Raste pri  $a_w$  od 0,97 do 0,92 i temperaturi od 20 do 30 °C (Pitt i Hocking, 1997). Poznata je po biosintezi fumonizina (Pitt i Hocking, 1997; Leslie i Summerell, 2006; Lević, 2008).



**Slika 5.8.** Izgled kolonija na PDA (25°C, 7 dana): a) *Fusarium sporotrichioides* i b) *Fusarium proliferatum*

Od ukupno 11 vrsta plesni koje su identifikovane kao kontaminanti ispitivanih uzoraka žitarica 8 vrsta je potencijalno toksigeno (Tabela 5.4.). U ukupnoj mikopopulaciji njihov udeo je bio 72,7%. Od proizvođača najznačajnijih mikotoksina koji su detektovani kao kontaminanti, najveću učestalost pojavljivanja imali su potencijalni proizvođači *Fusarium* toksina (167%), a značajno je i prisustvo potencijalnih proizvođača *Alternaria* toksina (67%). Prema navodima **Samson i sar. (2004)**, **Samson i Frisvad (2004)** i **Pitt i Hocking (2009)**

**Tabela 5.4.** Toksogene plesni izolovane iz žita i njihovi toksini (**Samson i sar., 2004;** **Samson i Frisvad, 2004;** **Pitt i Hocking, 2009**)

Rod	Vrsta	Učestalost pojavljivanja (%)	Mikotoksini
<i>Alternaria</i>	<i>alternata</i>	67	alternariol, alternariol monometil etar, alterotoksin I i II, altenuen, tenuazoična kiselina
<i>Aspergillus</i>	<i>flavus</i>	33	kojična kiselina, 3-nitropropionska kiselina, ciklopiasonična kiselina, aflatoksin B1, aspergilska kiselina
	<i>niger</i>	33	nafto- $\gamma$ -piron, malformin, ohratoksin A (nekoliko izolata)
<i>Fusarium</i>	<i>proliferatum</i>	67	fumonizini B1, B2, B3, bovericin, fuzaroproliferin, fuzarinska kiselina, fuzarin, moniliformin
	<i>sporotrichioides</i>	100	T-2 toksin, deoksinivalenon, zearalenon
<i>Penicillium</i>	<i>aurantiogriseum</i>	33	penicilinska kiselina, verukozidin, nefrotoksični glikopeptidi, anacin, aurantin, aurantiomin, ohratoksin A,
	<i>expansum</i>	33	rokuefortin C, patulin, citrinin, komunezin, hetoglobozin C
	<i>oxalicum</i>	33	sekalonična kiselina D i F, oksalin

## 5.2.2. Mikopopulacija uzoraka brašna

Mikopopulacije pšeničnog, kukuruznog i heljdinog brašna svrstane su u 7 rodova i 14 vrsta (Tabela 5.5.).

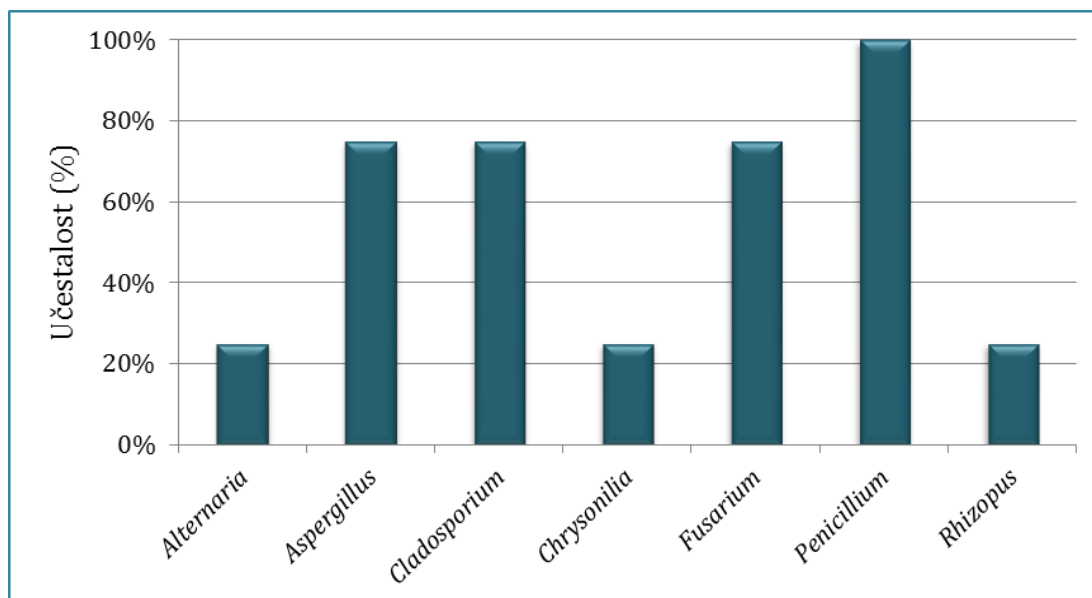
**Tabela 5.5.** Vrste plesni izolovane iz uzoraka brašna

Vrsta plesni	Uzorak			
	Pšenično brašno tip 500	Pšenično integralno brašno	Kukuruzno integralno brašno	Heljdino integralno brašno
<i>Alteranaria alternata</i>				+
<i>Aspergillus flavus</i>			+	
<i>A. fumigatus</i>				+
<i>A. niger</i>			+	
<i>A. versicolor</i>	+			
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	+	+		+
<i>Chrysonilia sitophila</i>				+
<i>Fusarium proliferatum</i>		+	+	
<i>F. sporotrichioides</i>	+		+	
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	+	+	+	+
<i>P. commune</i>			+	
<i>P. expansum</i>	+	+		
<i>P. oxalicum</i>			+	
<i>Rhizopus stolonifer</i>			+	

Legenda: + - prisustvo plesni u uzorcima brašna

Iz ispitivanog uzorka pšeničnog brašna tip 500 izolovane vrste plesni svrstane su u 4 roda i 5 vrsta (Tabela 5.5. ). Rod *Penicillium* bio je zastupljen sa 2 vrste, dok su rodovi *Aspergillus*, *Cladosporium* i *Fusarium* bili zastupljeni sa po jednom vrstom. Mikopopulacija pšeničnog integralnog brašna svrstana je u 3 roda i 4 vrste (Tabela 5.5.). Iz ispitivanog uzorka kukuruznog brašna izolovana su 4 roda i 8 vrsta. Rod *Penicillium* bio je zastupljen sa 3 vrste, rodovi *Aspergillus* i *Fusarium* bili su zastupljeni sa po dve vrste, dok je rod *Rhizopus* bio zastupljen sa jednom vrstom (Tabela 5.5.). Mikopopulacija heljdnog integralnog brašna svrstana je u 5 rodova i 5 vrsta (Tabela 5.5.).

Od 7 rodova najčešće izolovanih iz brašna od žitarica (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Chrysonilia*, *Fusarium*, *Penicillium* i *Rhizopus*) rod *Penicillium* bio je detektovan u svim uzorcima sa učestalošću od 100%. Učestalost rodova *Aspergillus*, *Cladosporium* i *Fusarium* bila je 75%, dok su *Alternaria*, *Chrysonilia* i *Rhizopus* imali manju učestalost pojavljivanja (25%) (Slika 5.9.).



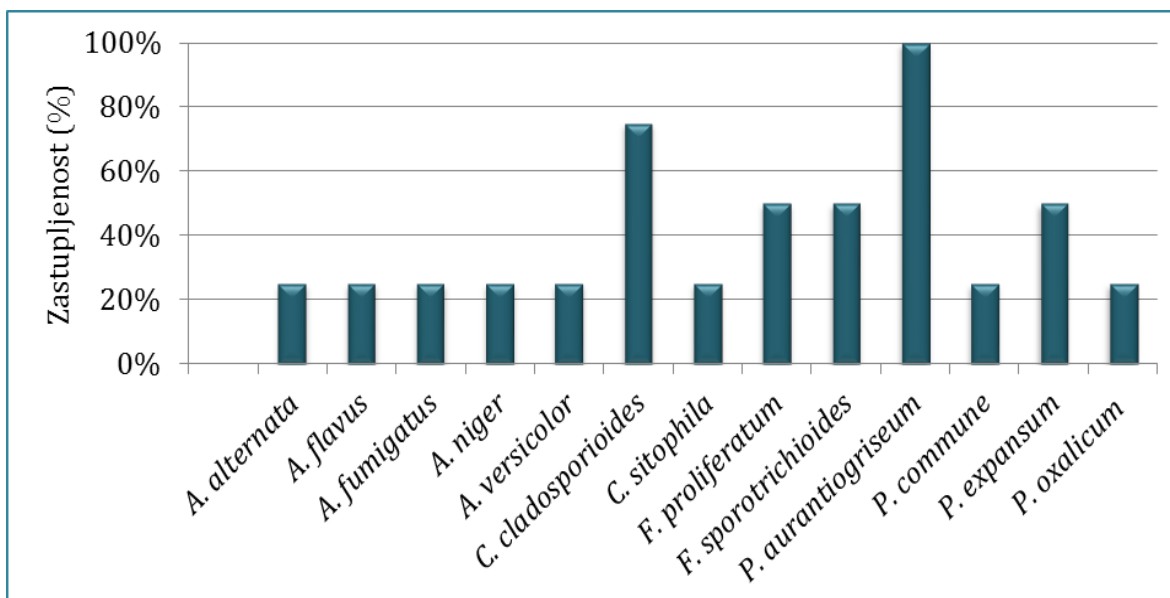
**Slika 5.9.** Učestalost pojavljivanja rodova plesni u uzorcima brašna

Dobijeni rezultati su očekivani i u skladu sa literaturnim navodima. Iz rezultata ispitivanja sastava mikopopulacije i učestalosti pojavljivanja u uzorcima brašna od žitarica uočava se sličnost u sastavu i dominantnosti pojavljivanja, kao što su saopštili i **Weidenbörner i sar. (2000)**. Pomenuti autori su objavili da je u uzorcima brašna od celog zrna pšenice najdominatniji rod bio *Aspergillus* (84%), a u uzorcima belog brašna rod *Penicillium* (77,3%). **Demirel i Sariozlu (2013)** su ukazali na značajno prisustvo vrsta plesni iz rodova *Aspergillus* (42,82%) i *Penicillium* (42,65%) kao kontaminante brašna. Učestalost pojavljivanja vrsta roda *Eurotium* bila je 5,63%, *Fusarium* 5,5%, *Paecilomyces* i *Cladosporium* 3,6%, dok su vrste rodova *Acremonium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus* i ostale izolovane u manjem procentu. Prema navodima **Al-Defiery i Merjan (2015)** najčešće izolovane vrste plesni iz uzoraka pšeničnog brašna bile su *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium* sa učestalošću pojavljivanja 21,3%, 15,84% i 12,23%, respektivno. **Ntuli i sar. (2013)** navode da su najčešće zastupljeni rodovi plesni u uzorcima pšeničnog brašna bili *Aspergillus* (33%) i *Penicillium* (25%). **Halt is ar. (2004)** su naveli da su dominantne vrste plesni iz uzoraka pšeničnog brašna pripadale rodovima *Penicillium* (56% od ukupno izolovanih), zatim *Aspergillus* (38%), *Mucor* i *Alternaria* (1%), *Cladopsorium*, *Fusarium*, *Absidia*, *Rhizopus* i *Trichoderma* (manje od 1%).

Prema rezultatima **Simpanya i sar. (2001)** fungalna kontaminacija je zabeležena kod 59,5% uzoraka kukuruznog brašna. Najzastupljeniji su bili *F. moniliforme* i *F.oxisporum*, a zatim *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. alternata*, *C. cladosporioides* i *Penicillium* vrste. **Alborch i sar. (2012)** su saopštili da su u uzorcima kukuruznog brašna najdominantniji rodovi bili *Aspergillus* (93,3%), *Penicillium* (83,3%), *Mucor* (53,3%), *Cladosporium* (43,3%), *Fusarium* (33,3%), dok su preostale vrste rodova *Trichoderma*, *Beauveria*, *Geotrihum*, *Alternaria*, *Paecilomyces*, *Acremonium*, *Eurotium* bile prisutne sa manje od 20%. Najdominantnije vrste bile su *A. flavus* (43,3%), *A. candidus* (33,3%), *A. fumigatus* (33,3%) i *E. chevalieri* (50%). Na osnovu rezultata ispitivanja **Korir i Bii (2012)** fungalne kontaminacije kukuruznog brašna, 75% uzoraka bilo je kontaminirano potencijalnim mikotoksigenim plesnima. Najzastupljeniji su bili *A. flavus* i *A. parasiticus* (80%), zatim *A. niger* (40%), *Fusarium moniliforme* (25%) i *Penicillium citrinum* (15%).

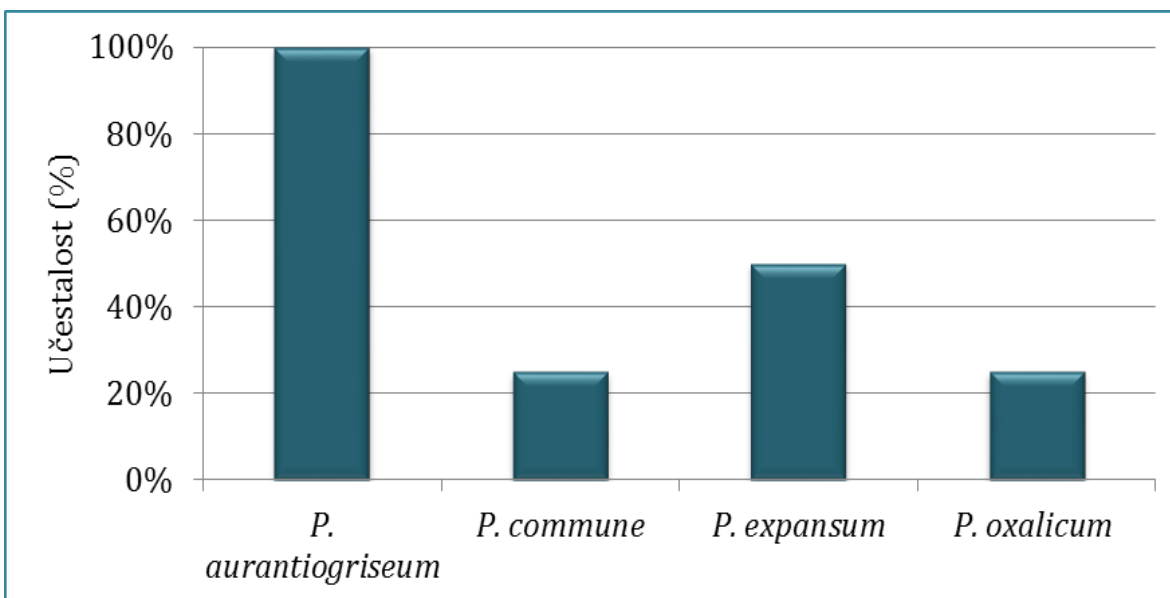
**Muthomi i sar. (2012)** su saopštili da su *Aspergillus* vrste bile dominantni kontaminanti kukuruza i kukuruznog brašna. Najzastupljeniji bio je *A. flavus*, zatim *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. versicolor*, *A. terreus*, *A. clavatus* i *A. ochraceus*. Prema rezultatima **Weidenbörner i Kunz (1993, 1994)** dominantne vrste plesni kod heljde i proizvoda od heljde bile su *Aspergillus* i *Penicillium* vrste. Od *Aspergillus* vrsta najdominantniji je bio *A. candidus* koji je izolovan kod 23,4% uzoraka. Od *Penicillium* vrsta najzastupljeniji je bio *P. aurantiogriseum*, izolovan iz 15,6% uzoraka. Prema rezultatima **Plavšić (2015)** u uzorcima brašna od žitarica najširu rasprostranjenost imali su rodovi *Aspergillus* (93,33%) i *Penicillium* (73,33%), zatim slede *Eurotium* i *Paecilomyces* (46,67%), *Rhizopus* (33,33%), dok su ostali imali manju učestalost pojavljivanja.

Najdominantniji rodovi bili su *Aspergillus* i *Penicilium*, koji su podjednako bili zastupljeni sa po 4 vrste. Rod *Fusarium* bio je zastupljen sa 2 vrste, dok su ostali rodovi bili zastupljeni sa po 1 vrstom. Najzastupljenija vrsta bila je *P. aurantiogriseum* (100%), zatim sledi *C. cladosporioides* sa 75% zastupljenosti. Zastupljenost vrsta *F. proliferatum*, *F. sporotrichioides* i *P. expansum* iznosila je 50%, a sve ostale vrste bile su zastupljene sa 25% (Slika 5.10.)



**Slika 5.10.** Zastupljenost vrsta plesni u uzorcima brašna

Od izolovanih *Penicillium* vrsta, najdominantnija je bila *P. aurantiogriseum* sa učestalošću pojavljivanja 100%. Zastupljenost *P. expansum* iznosila je 50%, dok su *P. commune* i *P. oxalicum* bile zastupljene sa 25% (Slika 5.11.).



**Slika 5.11.** Učestalost pojavljivanja *Penicillium* vrsta u uzorcima brašna

Prema literaturnim podacima, navedene *Penicillium* vrste su česti kontaminanti žita i mlinskih proizvoda. Prema istraživanjima **Plavšić (2015)** iz uzoraka brašna izolovano je

osam *Penicillium* vrsta: *P. aurantiogriseum*, *P. expansum*, *P. chrysogenum*, *P. commune*, *P. griseofulvum*, *P. glabrum*, *P. rugulosum* i *P. oxalicum*. Najdominantnije vrste bile su *P. aurantiogriseum* i *P. expansum* sa učestalošću pojavljivanja od 46,67%.

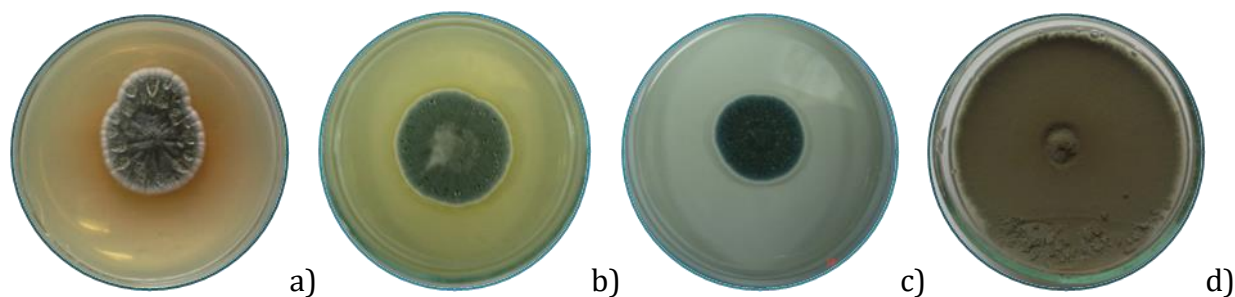
*P. aurantiogriseum* (Slika 5.12.a) je najčešće izolovana vrsta iz hrane. Raste u širokom temperaturnom intervalu od -2 do 30°C, na optimalnoj temperaturi od 23°C i minimalnoj  $a_w$  od 0,81. Vrsta je ubikvitarna i veoma prilagodljiva. Razvija se na biljkama za vreme vegetacije izazivajući trulež, mada se češće sreće u mikopopulacijama skladištenih proizvoda (**Pitt i Hocking, 2009**). *P. aurantiogriseum* sintetisuje niz toksičnih jedinjenja kao što su: penicilinska kiselina, penitrem A, ksantomenin, ciklopiazonična kiselina. Zabeleženo je i da može da sintetisuje i ohratoksin A. *P. expansum* (Slika 5.12.b) raste u širokom temperaturnom rasponu od -3 do 35°C, na optimalnoj temperaturi od 25°C i minimalnoj  $a_w$  0,82 do 0,83. Može da raste u uslovima smanjenog sadržaja kiseonika (manje od 2,1%), dok prisustvo ugljen dioksida u atmosferi (ispod 15%) podstiče rast *P. expansum*. *P. expansum* je najčešće izolovan iz voća, a pored toga čest je patogen brojnih poljoprivrednih vrsta. Toksigena je vrsta. Sintetisuje mikotoksin patulin, kao i citrinin i rokefortin C (**Samson i sar., 2004; Škrinjar and Tešanović, 2007; Pitt and Hocking, 2009**).

*P. commune* (Slika 5.12.c), kao i većina *Penicillium* vrsta raste brzo na temperaturama hlađenja. Optimalna temperatura rasta je 25°C, a maksimalna 35°C. Verovatno da ima sposobnost da raste i ispod  $a_w$  0,85. Nije uočen rast *P. commune* u atmosferi od 20% CO<sub>2</sub> i manje od 0,5% O<sub>2</sub>. Međutim, u atmosferi od 80% CO<sub>2</sub> i 20% O<sub>2</sub> zabeležen je rast *P. commune* (**Pitt and Hocking, 2009**). Primarno stanište za *P. commune* u hrani je sir, čiji je glavni uzrok kvarenja. Prema navodima (**Pitt i sar., 1993; Pitt i sar., 1994; Pitt i sar., 1998**) *P. commune* je izolovan kod kukuruza, kikirikija, soje i nekih leguminoza u jugoistočnoj Aziji.

*P. oxalicum* (Slika 5.12.d) takođe, kao i većina *Penicillium* vrsta raste na temperaturama hlađenja. Prema navodima **Mislivec i Tuite (1970)** minimalna temperatura raste za *P. oxalicum* je 8°C, a optimalna je oko 30°C. Prema navodima **Pitt i Hocking (1997)** glavno stanište *P. oxalicum* je kukuruz u fazi pred zrenja i to najčešće na oštećenim mestima i mestima napadnutim od strane insekata. Takođe, uočeno je i prisustvo *P. oxalicum* i kod skladištenog kukuruza, ali u manjoj meri (**Amusa i sar., 2005**;

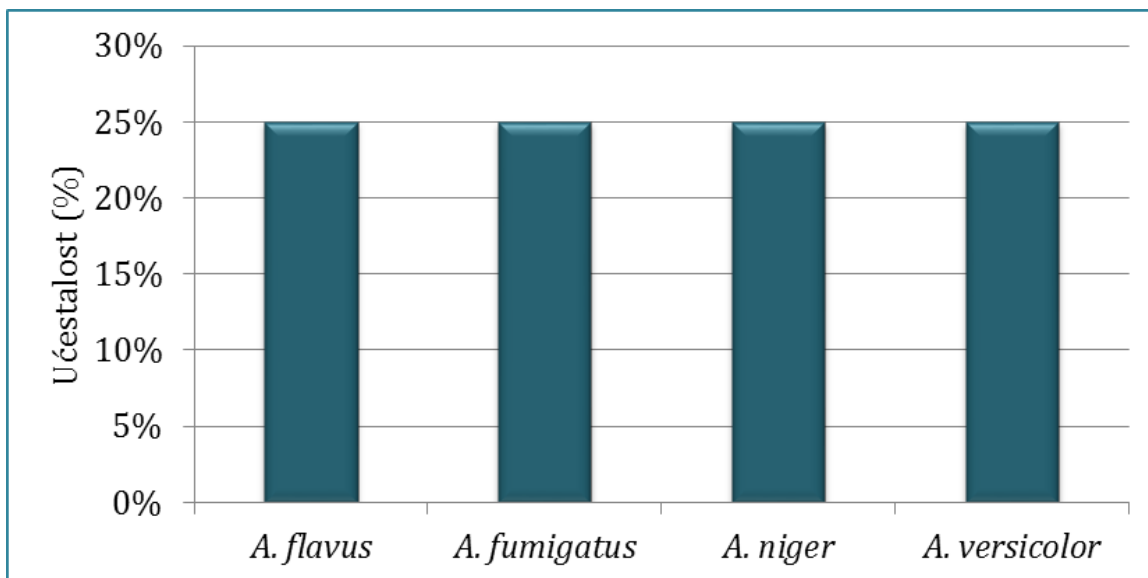


**Askun i sar., 2006).** Prema navodima **Freire i Kozakievicz (2005)** čest je kontaminant orašastih plodova. Pored toga izolovan je sa brojnih drugih namirnica kao što su pšenica, ječam, soja, brašno, lešnik, orah, paprika, začini, fermentisane kobacice (**Pitt i Hocking 1997**).



**Slika 5.12.** Izgled kolonija na CYA (25°C, 7 dana): a) *P. aurantiogriseum*, b) *P. expansum*, c) *P. commune* i d) *P. oxalicum*

Rod *Aspergillus* bio je zastupljen sa 4 vrste (*A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger* i *A. versicolor*) i sa po 25% učestalosti (Slika 5.13.).



**Slika 5.13.** Učestalost pojavljivanja *Aspergillus* vrsta u uzorcima brašna

Prisustvo *Aspergillus* vrsta i pored manje učestalosti pojavljivanja ne treba zanemariti, s obzirom da se radi o potencijalno toksigenim vrstama. Prema literaturnim podacima, navedene *Aspergillus* vrste su česti kontaminanti žita i mlinskih proizvoda (**Pitt i Hocking, 2009**). **Riba i sar. (2008)** su utvrdili u uzorcima pšeničnog brašna značajno

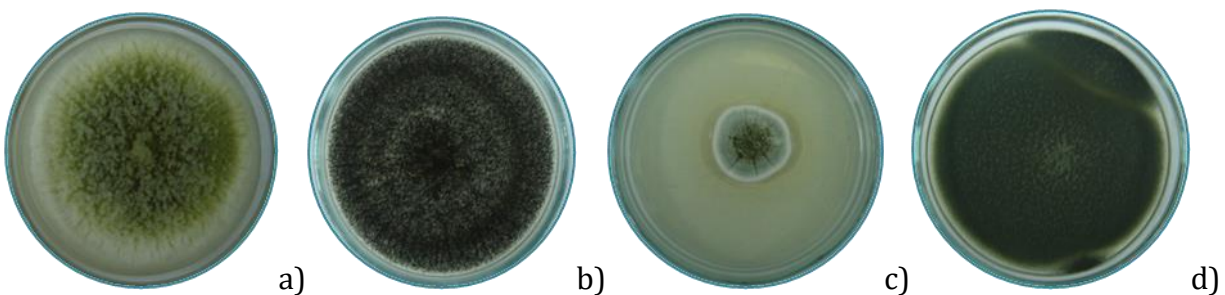
prisutvo *Aspergillus* vrsta, pogotovo *A. flavus* sa zastupljenošću od 95%, zatim slede *A. niger* i *A. versicolor*. Slične rezultate su saopštili i **Alborch i sar. (2012)** za uzorke kukuruznog brašna pri čemu je najzastupljenija vrsta bila *A. flavus* (43,3%), slede *A. candidus* (33,3%) i *A. fumigatus* (33,3%). Prema rezultatima ispitivanja **Rezazadeh i sar. (2013)** od ukupne fungalne kontaminacije u uzorcima brašna *Aspergillus* vrste su učestvovala sa 50%. Prema rezultatima **Plavšić i sar. (2016)** iz uzoraka brašna izolovano je 10 *Aspergillus* vrsta: *A. flavus*, *A. niger*, *A. versicolor*, *A. terreus*, *A. candidus*, *A. penicillioides*, *A. glaucus*, *A. wentii*, *A. fumigatus* i *A. sydovii*. Najdominantnije vrste bile su *A. flavus* (60 %), zatim *A. candidus* (33.3 %) i *A. niger* (26.67 %).

Literaturni podaci ukazuju da je *A. flavus* je široko rasprostranjen u prirodi. Spore *A. flavus* (Slika 5.14.a) nalaze se u zemljištu, na biljnom materijalu u raspadanju, na zrnima kikirikija i žitarica, posebno na kukuruzu. Vodeći je kontaminant kikirikija, kukuruza, žita (**Cheesborough, 2005**) pogotovo u tropskim predelima (**Thomas i sar., 2012**). Optimalno raste u temperaturnom rasponu između 25 i 42°C. Maksimalna temperatura pri kojoj se još uvek može uočiti rast *A. flavus* je 48°C. Raste pri minimalnoj  $a_w$  0,78 i 0,80 (**Škrinjar i sar., 2013**). Sintetiše aflatoksine. AB1 je često prisutan u ljudskoj i stočnoj hrani, ujedno je i najtoksičniji. Smatra se jednim od najjačih hepatokancerogena među mikotoksinima koji izazivaju karcinom jetre (**Duraković i sar., 1989**). Aflatoksini pokazuju veliku stabilnost na uticaj visokih temperatura, na promene koncentracije vodonikovih jona, na zračenje UV i gama zracima. Mnoga istraživanja ukazuju na učestalu pojavu aflatoksina u hrani i karcinoma jetre kod ljudi u tropskim i subtropskim regionima Afrike, Azije, Japana, Tajlanda i Filipina (**Duraković i sar., 1989**).

*A. niger* je veoma otporan prema spoljašnjim faktorima. Minimalna  $a_w$  vrednost potrebna za germinaciju je 0,77. Koloniju čini bela ili žuta supstratna micelija sa konidijalnim glavicama crne ili tamno braon boje (Slika 5.14.b). Od toksičnih metabolita *A. niger* može sintetisati nafto- $\gamma$ -piron, malformin i ohratoksin A (neki sojevi) (**Samson i sar., 2004**). Široko je rasprostranjen u prirodi. *A. niger* je često izolavana plesan iz jezgrastog voća, cerealija, semena uljarica, osušenih i dimljenih riba, proizvoda od mesa, suvog grožđa, začina (**Pitt i Hocking, 2009**).

*A. versicolor* (Slika 5.14.c) je čest kontaminant cerealija, semana uljarica, jezgrastog voća, suhomesnatih proizvoda, tvrdih sireva, kafe, mlečnih proizvoda, začina. Minimalna  $a_w$  vrednost za rast kreće se u granicama 0,78–0,80. *A. versicolor* pored STC sintetiše i nidulotoksin (Samson i sar., 2004; Pitt i Hocking, 2009). STC je vrlo sličan AB1. Ovaj mikotoksin je mnogo manje toksičan od AB1, ali su toksični efekti skoro isti, s obzirom da se u hranu izlučuje u većoj količini. Pored pojave hepatoma i lezije bubrega, kod eksperimentalnih životinja zabeleženi su slučajevi miokardijalne nekroze srca, pulmonalnih tumora, a sve češće se govori o STC kao mutagenom agensu (Miller, 1995; van Egmond i sar., 1991).

*A. fumigatus* (Slika 5.14.d) čest je kontaminant pšenice (Soldevilla i sar., 2005; Lugauskas i sar., 2006), pirinča, prokuvanog pirinča, ječma (Pitt i Hocking, 1997). Takođe, često se nalazi na sušenom i prerađenom mesu, pogotovo u tropskim predelima (Sabater-Vilar i sar., 2003a,b; Pitt i Hocking, 1997). Javlja se i na orašastim plodovima (Pitt i Hocking, 1997). Za *A. fumigatus* karakteristična je njegoa priroda termofilnosti. Minimalna temperatura rasta *A. fumigatus* iznosi 12°C, optimalna 40-42°C a maksimalna blizu 55°C (Panassenko, 1967; Ayerst,1969; Evans, 1971; Domsch i sar., 1980). Minimalna  $a_w$  vrednost za rast *A. fumigatus* iznosi 0,82 Ayerst (1969). *A. fumigatus* sintetiše fumitremorgene, verukulogen i gliotoksin, koji su uzročnici obolevanja životinja (Cole, 1980; Cole, 1981; Dorner i sar., 1984; Moreau, 1980; Frisvad i sar.,2006). Fumigaklavini sintetisani od strane *A. fumigatus* slični su ergot alkaloidima (Panaccione i Coyle, 2005).



**Slika 5.14.** Izgled kolonija na CYA (25°C, 7 dana): a) *A. flavus*, b) *A. niger*, c) *A. versicolor* i d) *A. fumigatus*

Od ukupno 14 vrsta plesni koje su identifikovane kao kontaminanti ispitivanih uzoraka brašna 11 vrsta je potencijalno toksigeno (Tabela 5.6.). U ukupnoj mikopopulaciji njihov udeo je bio 78,6%. Od proizvođača najznačajnijih mikotoksina koji su detektovani kao kontaminanti, najveću učestalost pojavljivanja imali su potencijalni proizvođači ohratoksina A (125%), a značajno je i prisustvo potencijalnih proizvođača fuzariotoksina (50%) i patulina (50%). Prema navodima **Samson i sar. (2004)**, **Samson i Frisvad (2004)** i **Pitt i Hocking (2009)** izolovane vrste plesni potencijalno sintetišu brojne mikotoksine koji su prikazani u Tabeli 5.6.

**Tabela 5.6.** Toksogene plesni izolovane iz brašna i njihovi toksini (**Samson i sar., 2004; Samson i Frisvad, 2004; Pitt i Hocking, 2009**)

Rod	Vrsta	Učestalost pojavljivanja (%)	Mikotoksini
<i>Alternaria</i>	<i>alternata</i>	25	alternariol, alternariol monometil etar, alterotoksin I i II, altenuen, tenuazoična kiselina
<i>Aspergillus</i>	<i>flavus</i>	25	kojična kiselina, 3-nitropropionska kiselina, ciklopiasonična kiselina, aflatoksin B1, aspergilska kiselina
	<i>fumigatus</i>	25	gliotoksin, verukologen, fumitremorgin A i B, fumitoksins, triptokvivalins
	<i>niger</i>	25	nafto- $\gamma$ -piron, malformin, ohratoksin A (nekoliko izolata)
	<i>versicolor</i>	25	STC, nidulotoksin
<i>Fusarium</i>	<i>proliferatum</i>	50	fumonizini B1, B2, B3, bovericin, fuzaroproliferin, fuzarinska kiselina, fuzarin, moniliformin
	<i>sporotrichioides</i>	50	T-2 toksin, deoksinivalenon, zearalenon
<i>Penicillium</i>	<i>aurantiogriseum</i>	100	penicilinska kiselina, verukozidin, nefrotoksični glikopeptidi, anacin, aurantin, aurantiomin, ohratoksin A
	<i>commune</i>	25	Ciklopiazonična kiselina, rugulovazin A i B, ciklopaldična kiselina
	<i>expansum</i>	50	rokuefortin C, patulin, citrinin, komunezin, hetoglobozin C
	<i>oxalicum</i>	25	sekalonična kiselina D i F, oksalin

Kako navode **Pitt i Hocking (2009)**, uočeno je da je zastupljenost “poljskih plesni”, u mikopopulaciji brašna znatno niža nego kod žitarica pre mlevenja, kao i da je dominantnija

zastupljenost plesni iz rodova *Aspergillus* i *Penicillium*. Uočene promene posledica su različitog stepena sporulacije. "Poljske plesni" stvaraju relativno malo spora, dok *Aspergillus* i *Penicillium* vrste stvaraju relativno više spora. Povoljni uslovi za rast i razvoj određene vrste plesni mogu se stvoriti i na polju i u skladišnim uslovima pri čemu je  $a_w$  bitan faktor.

U Tabeli 5.7 prikazane su izmerene vrednosti  $a_w$  uzoraka brašna.

**Tabela 5.7.** Vrednosti aktivnosti vode ( $a_w$ ) uzoraka brašna

Uzorak	$a_w$
Pšenično brašno T 500	0,68±0,01*
Pšenično integralno brašno	0,68±0,01
Kukuruzno integralno brašno	0,67±0,01
Heljdino integralno brašno	0,65±0,01

\*Rezultati su dati kao srednja vrednost tri merenja ± standradna devijacija

Aktivnost vode uzoraka brašna od žitarica kretale su se od 0,65±0,01 do 0,68±0,1. Najniža  $a_w$  vrednost uočena je kod heljdinog integralnog brašna (0,65±0,01). Najviša  $a_w$  vrednost uočena je kod uzoraka pšeničnog brašna Tip 500 i pšeničnog integralnog brašna. Veća  $a_w$  vrednost kod pšeničnog brašna Tip 500 i pšeničnog integralnog brašna može biti zbog toga što se pšenica pre mlevenja kvasi, ostavlja da odleži 24 h i pola sata pre mlevenja se dodatno kvasi do sadržaja vode do 15% i nakon toga melje (**Službeni list SFRJ, 74/88**).

Važno je da se brašno čuva u uslovima relativne vlažnosti koji joj ne dozvoljavaju apsorpciju vlage iz vazduha (**Muntañola-Cvetković, 1990**). **Hocking (2003)** objašnjava da ukoliko je  $a_w$  vrednost uskladištenih žitarica ispod 0,60 onemogućen je rast plesni. Međutim, samo malo povećanje temperature i vlage uzrokuje rast kserofilnih plesni. U toku rasta, plesni svojom metaboličkom aktivnošću stvaraju uslove povišene temperature i vlage. Stvoreni uslovi omogućavaju rast manje kserofilnih vrsta. To je proces poznat kao gljivična sukcesija (**Wicklów, 1995**). Ukoliko se dostupnost vode poveća na 15-19% vlage (što odgovara  $a_w$  vrednosti pšenice 0,75-0,85), rast plesni kvarenja, pogotovo vrsta rodova *Aspergillus* i *Penicillium* rezultira značajnim povećanjem respiratorne aktivnosti

**(Petersson i Schnurer, 1995)**. To može dovesti do porasta temperature i spontanog zagrevanja usled sukcesivne kolonizacije plesnima, što opet može dovesti do kolonizacije termofilnih plesni i aktinomiceta **(Fleurat-Lessard, 2020; Magan i sar., 2004; Shuey, 1960)**.

**Birck i sar. (2006)** pratili su korelaciju između  $a_w$  vrednosti u uskladištenoj pšenici tokom perioda skladištenja od 180 dana i rasta plesni. Uočeno je da je tokom skladištenja od 180 dana došlo do porasta  $a_w$  od početne vrednosti od 0,63 do 0,68. Do postepenog porasta  $a_w$  došlo je u periodu od 150 do 180 dana skladištenja. Takođe, u pomenutom periodu uočen je i porast broja plesni na uzorcima pšenice. Pomenuti autori su pretpostavili da je porast vrednosti  $a_w$  možda posledica zaraze insektima jer je u pomenutom periodu uočena zaraza. Prema mišljenju više autora prisutvo insekata pored nanošenja štete i širenja kontaminacije doprinosi i povećanju sadržaja vode i temperature zbog njihovog kretanja što opet doprinosi povećanju broja plesni na zrnu žita **(Scudamore, 2005; Santos, 2002; dos Santos i Mantovani, 1997; Lazzari, 1997)**.

Sastav mikopopulacije žitarica, a posebno brašna može biti i posledica tehnološkog postupka proizvodnje. Zrno žitarica podložno je čitavom nizu kontaminacija tokom sazrevanja, žetve, skladištenja i prerade. Iz pomenutih razloga neophodna je površinska obrada zrna, kojom se odstranjuju sve ili gotovo sve nečistoće. U tu svrhu koriste se specijalne mašine i uređaji kao što su: aspirater, trijer, selektor, suvi odvajач kamena, razne vrste mašina za površinsku obradu (ribalica, četkalica, itd.) i ljuštilice posebnih konstrukcija. Standardnim postupkom prerade žita u belo brašno najveći deo ovih kontaminacija je pod kontrolom. Međutim, proizvodnja, skladištenje i priprema zrna namenjenog za pripremu integralnog brašna znatno je složenija i skuplja od standardnog načina. Mašine i uređaji, koji se koriste u postupku površinske obrade zrna, u znatnoj meri poskupljuju tehnološki postupak proizvodnje, pa se često u praksi zaobilaze. Zbog takvog načina zrno žitarica uglavnom se ne očisti ili neoljušti idealno, pogotovo kada je u pitanju heljda. Izostanak površinske obrade zrna ili njena nepotpuna primena uzrok je da su kontaminanti sa površine zrna često prisutni i u integralnom brašnu **(Žeželj, 1995; Stojanović i Psodorov, 2007)**.

### 5.3. Hemijski sastav etarskih ulja

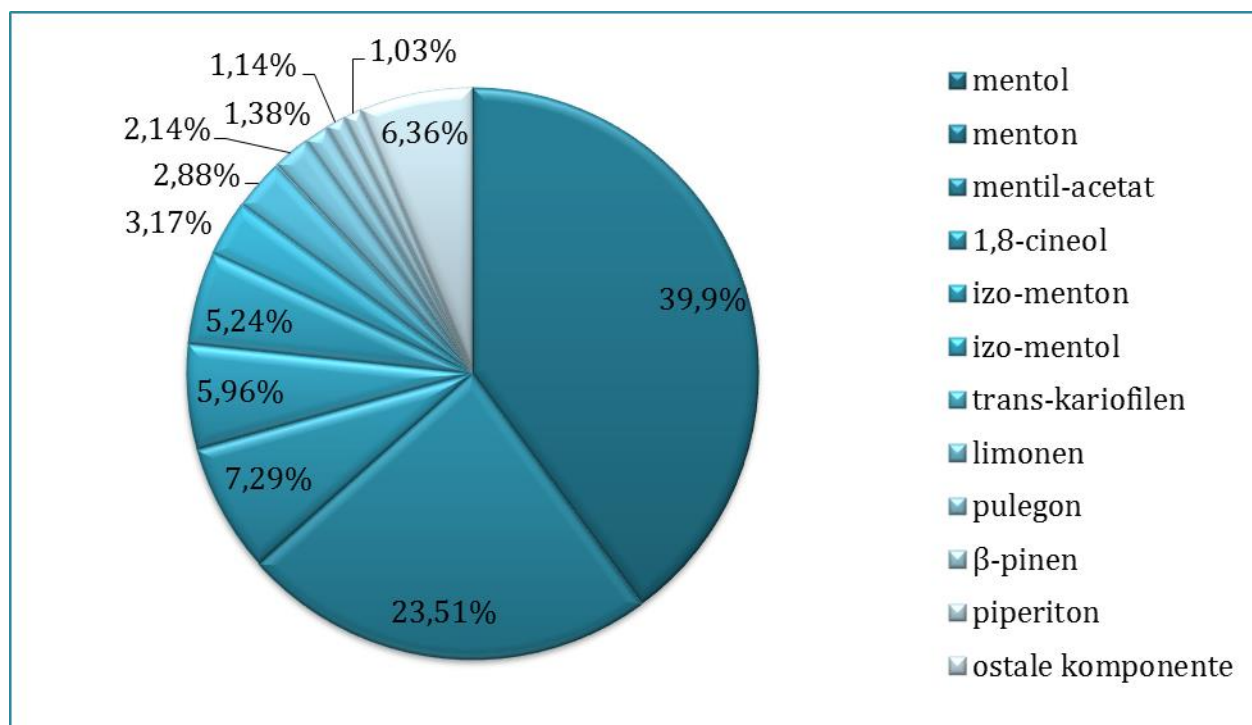
U Tabeli 5.8 prikazan je hemijski sastav etarskog ulja mente.

**Tabela 5.8.** Hemijski sastav etarskog ulja mente

Komponente	%	RT
alfa-pinen	0,74	4,626
sabinen	0,42	5,523
beta-pinen	1,14	5,637
mircen	0,2	5,920
o-cimen	0,42	6,994
limonen	2,14	7,125
1,8-cineol	5,96	7,210
trans-sabinen-hidrat	0,17	8,500
linalool	0,15	9,781
izopulegol	0,15	11,861
menton	23,51	12,327
izo-menton	5,24	12,720
izo-mentol	3,17	12,813
mentol	39,9	13,481
neo-izomentol	0,52	13,769
alfa-terpineol	0,73	14,136
pulegon	1,38	16,542
karvon	0,14	16,805
piperiton	1,03	17,359
3-para-menten	0,32	18,593
mentil-acetat	7,29	19,875
alfa-kubeben	0,09	15,249
trans-kariofilen	2,88	27,613
alfa-humulen	0,24	29,710
beta-farnezen	0,1	30,239
D-germakren	0,26	31,444
kariofilen-oksid	0,69	37,419
Ukupno	98,98	

Primenjenom GC/MS analizom u etarskom ulja mente identifikovano je 27 komponenti, što je činilo 98,98% etarskog ulja. Najzastupljenije komponente u ispitivanom etarskom ulju bile su mentol (39,9%), menton (23,51%), mentil-acetat (7,29%), 1,8-cineol (5,96%), izo-menton (5,24%), izo-mentol (3,17%), trans-kariofilen (2,88%), limonen (2,14%), pulegon(1,38%),  $\beta$ -pinen (1,14%) i piperiton (1,03%). Ostale komponente bile su

prisutne u količini manjoj od 1%, a ukupno su predstavljale 6,36% od svih identifikovanih komponenti (Slika 5.15).



**Slika 5.15.** Zastupljenost dominantnih komponenti u etarskom ulju mente

Dobijeni rezultati su u skladu sa literaturnim podacima. Menta sadrži oko 1,25% etarskog ulja, a od toga je 50 do 90% mentol i 5 do 20% menton (**Mišan i sar., 2013**). **Bakkali i sar. (2008)** navode da *Mentha piperita* sadrži 59% mentola i 19% mentona. Prema navodima **Kazemi i sar. (2012)**, **Nikolić i sar. (2013)** i **Moghtader (2013)** glavne komponente u hemijskom sastavu mente bile su mentol, mentil acetat i menton. Slične rezultate navodi **Plavšić (2015)**, pri čemu su najzastupljenije komponente u ispitivanom etarskom ulju mente bile mentol (47%), mentil acetat (12%), menton (8,69%), 1,8-cineol (3,2%), *izo-menton* i *neo-mentol* (3,1%), *cis-sabinen hidrat* (1,65%), *trans-β-kariofilen* (1,61%), limonen (1,6%), gemakren-D (1,56%), piperiton (1,32%) i *izo-mentol* (1,17%). Ostale komponente su bile prisutne u količini manjoj od 1%, a ukupno su predstavljale 13,39% od svih identifikovanih komponenti. Međutim, prema navodima drugih autora sastav komponentata može varirati. **Mousavi i Raftos (2012)** i **Al Yousef (2013)** su saopštili da je u sastavu mente najzastupljeniji bio menton, zatim mentol i *izo-menton*.



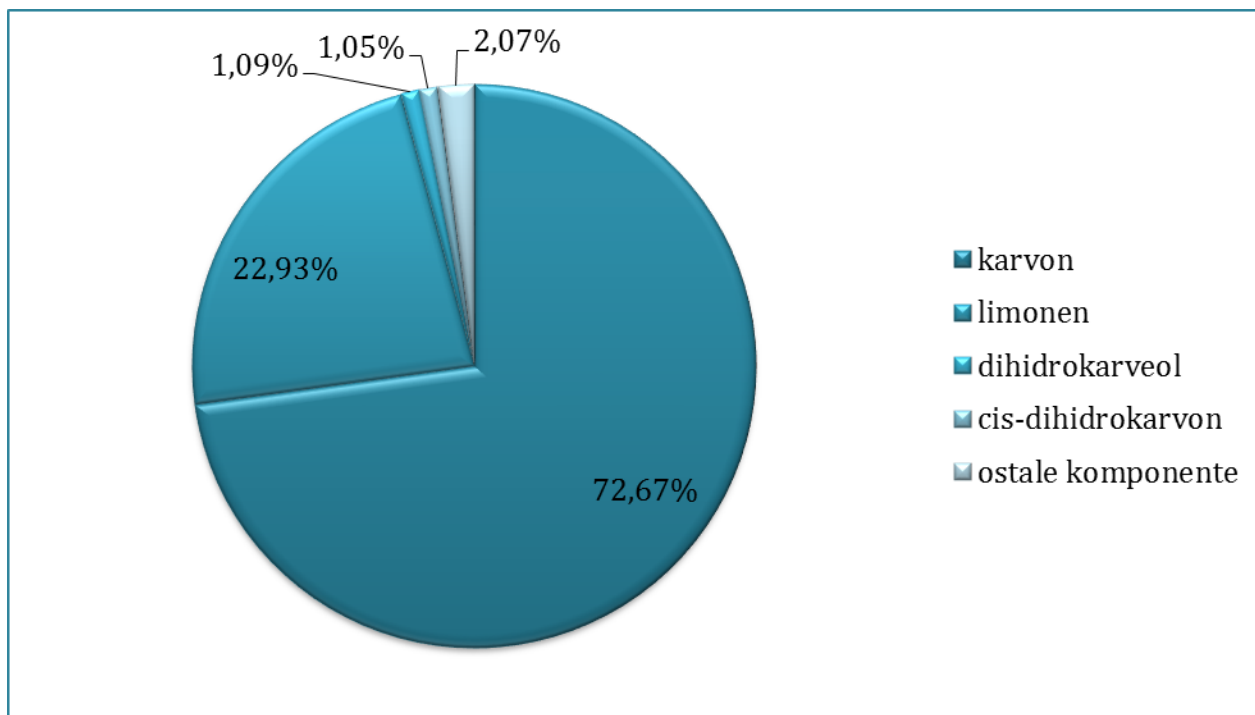
Razlike se mogu povezati sa različitim ekološkim faktorima koji utiču na proizvodnju i sastav etarskog ulja. **Rohloff (1999)** je zaključio da se kod starijih biljaka mente povećava sadržaj mentola, mentil acetata i neomentola, dok je kod mlađih biljaka veći sadržaj mentona i izomentona. U toku biosinteze komponenata etarskog ulja pitome nane geranilpirofosfat se transformiše u (-)-limonen iz koga preko (-)-izopiperitona nastaje pulegon, iz koga može nastati menton i/ili mentofuran (**Dey i Harbone, 1997; Croteau i sar., 2000; Davis i sar., 2005**). Iz mentona nastaje neomentol i mentol koji se esterifikacijom transformiše u mentil acetat (**Murray, 1972**).

Hemijski sastav etarskog ulja kima prikazan je u Tabeli 5.9.

**Tabela 5.9.** Hemijski sastav etarskog ulja kima

Komponente	%	RT
mircen	0,1	5,912
limonen	22,93	7,172
trans-p-menta-2,8-dien-1-ol	0,17	11,341
$\alpha$ -terpineol	0,32	14,077
cis-dihidrokarvon	1,05	14,310
trans-dihidrokarvon	0,46	14,673
izo-dihidrokarveol	0,26	15,536
trans-karveol	0,32	15,781
dihidrokarveol	1,09	16,285
karvon	72,67	17,223
perila-aldehid	0,24	18,560
kariofilen-oksidi	0,2	37,419
Ukupno	99,81	

U etarskom ulju kima identifikovano je 12 komponenti, što je činilo 99,81% etarskog ulja. Glavne komponente etarskog ulja kima bile su karvon (72,67%) i limonen (22,93%). Ostale komponente bile su zastupljene oko 1% i manje od 1%, a predstavljale su 2,07% od svih identifikovanih komponenti (Slika 5.16.).



**Slika 5.16.** Zastupljenost dominantnih komponenti u etarskom ulju kima

Dobijeni rezultati su u skladu sa literaturnim podacima gde se kao vodeće komponente navode ketoni (karvon) i monoterpeni (limonen). Plod kima sadrži od 3 do 7% etarskog ulja. Glavni sastojci su karvon (50 do 85%) i limonen (20 do 30%). Veći broj istraživanja je pokazao da su bez obzira na vrstu ispitivanih kultivara i njihovo poreklo, karvon i limonen glavni sastojci ulja ploda, i najčešće zajedno čine preko 95% ulja. Broj sunčanih dana, pored toga što utiče na količinu etarskog ulja u biljci, utiče i na odnos karvona i limonena u njemu. Sa većim brojem sunčanih dana povećava se i sadržaj karvona u odnosu na limonen (**Cakić, 2012**). Geografsko poreklo takođe utiče na varijacije u sadržaju karvona i limonena. **Laribi i sar. (2013)** su ispitali etarska ulja kima poreklom iz Tunisa, Nemačke i Egipta. Vodeća komponenta bila je karvon čiji se sadržaj kretao u intervalu od 61,58 do 77,35%, a zatim sledi limonen u rasponu od 16,15 do 29,11%. **Kocić-Tanackov i sar. (2017a)** su saopštili da je glavna komponenta etarskog ulja kima bio karvon (72,11%). Prema rezultatima **Plavšić (2015)** glavne komponente etarskog ulja kima bile su karvon (52,56%) i limonen (43,78%). Ostale komponente bile su zastupljene manje od 1%, a ukupno su predstavljale 3,56% svih identifikovanih komponenti. Međutim, prema navodima **Tarek i sar. (2014)** glavne komponente u sastavu kima bile su limonen i

β-selinen. Razlike u hemijskom sastavu istog etarskog ulja mogu se pripisati različitim sortama, području na kojima je biljka uzgajana, klimatskim uslovima pod kojima je biljka gajena, načinu i trenutku berbe biljke, uslovima skladištenja, kao i načinu dobijanja ulja. Sastavi ulja iz različitih delova iste biljke se takođe razlikuju jedan od drugog (**Kocić-Tanackov i sar., 2017b**).

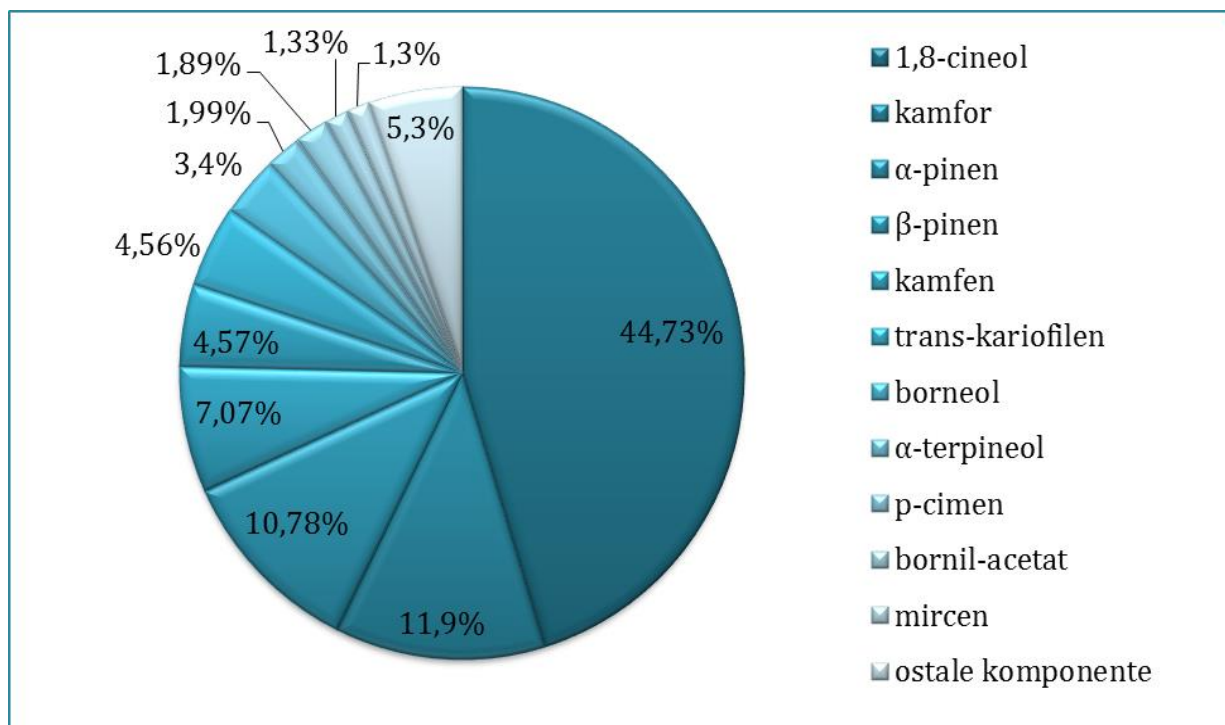
Hemijski sastav etarskog ulja ruzmarina prikazan je u Tabeli 5.10.

**Tabela 5.10.** Hemijski sastav etarskog ulja ruzmarina

Komponente	%	RT
alfa-felandren	0,38	4,453
alfa-pinen	10,78	4,630
kamfen	4,57	4,969
sabinen	0,14	5,522
beta-pinen	7,07	5,641
mircen	1,3	5,920
alfa-tujen	0,18	6,364
delta-3-karen	0,26	6,533
para-cimen	1,89	7,028
1,8-cineol	44,73	7,298
beta-trans-ocimen	0,1	7,730
gama-terpinen	0,73	8,148
delta-2-karen	0,42	9,269
linalool	0,93	9,776
kamfor	11,9	11,772
borneol	3,4	12,825
terpinen-4-ol	0,94	13,354
alfa-terpineol	1,99	14,073
bornil-acetat	1,33	19,202
alfa-kopaen	0,31	24,898
trans-kariofilen	4,56	27,617
alfa-humulen	0,53	29,702
gama-kadinen	0,21	31,241
delta-kadinen	0,35	34,108
kariofilen-oksid	0,2	37,419
Ukupno	99,2	

U etarskom ulju ruzmarina identifikovano je 25 komponenti, što čini 99,2% etarskog ulja.

Etarsko ulje ruzmarina je u najvećem procentu sadržavalo 1,8-cineol (44,73%), zatim kamfor (11,9%),  $\alpha$ -pinen (10,78%),  $\beta$ -pinen (7,07%), kamfen (4,57%), trans-kariofilen (4,56%), borneol (3,4%),  $\alpha$ -terpineol (1,99%), *p*-cimen (1,89%), bornil-acetat (1,33%) i mircen (1,3%). Ostale komponente bile su prisutne sa manje od 1%, a predstavljale su 5,3% od svih identifikovanih komponenti (Slika 5.17.).



**Slika 5.17.** Zastupljenost dominantnih komponenti u etarskom ulju ruzmarina

Vodeće komponente etarskog ulja ruzmarina su kamfor, 1,8-cineol,  $\alpha$ -pinen, kamfen,  $\alpha$ -terpineol, borneol i verbenon (Szumny i sar., 2010; Nowak i sar., 2012, Barreto i sar., 2014). Prema literaturnim navodima, ruzmarinov list sadrži 1,0-2,5% etarskog ulja sa glavnim sastojcima: 15-30% 1,8-cineola, 15-25% kamfora, do 25%  $\alpha$ -pinena, oko 8% kamfena, 10-20% (+) borneola sa 5-10% bornil acetatom i limonenom i drugim monoterpenima (Mišan, 2013). Prema navodima Moghtader i Afzali (2009) i Moghtader i sar. (2011) u etarskom ulju ruzmarina identifikovana je 41 komponenta, a vodeće komponente bile su  $\alpha$ -pinen (15,52%), kamfor (11,66%), verbenon (11,10%) i 1,8-cineol (10,63%). Šarić i sar. (2014) navode da su u etarskom ulju ruzmarina vodeće komponente

bile kamfor (17,6%), 1,8-cineol (16,1%), verbenon (13,8%),  $\alpha$ -pinen (12,45%) i borneol (9,2%). Kako navodi **Flamini i sar. (2002)** vodeće komponente etarskog ulja ruzmarina su 1,8-cineol,  $\alpha$ -pinen i kamfor i relativno stabilan odnos ovih komponenti definiše svaki hemotip. Varijacije u sastavu vodećih komponenti etarskog ulja ruzmarina određuju njegov hemotip koji zavisi od toga da li se gaji pod različitim uslovima uključujući zemljište, klimu, stanište (**Mills, 2003; Stewart, 2005**). **Matsuzaki i sar. (2013)** su ispitivali sastav tri hemotipa etarskog ulja ruzmarina. Vodeće komponente tri hemotipa, cineol, verbenon i kamfor, bile su 1,8-cineol,  $\alpha$ -pinen i kamfor. Sadržaj i odnos ovih komponenti bili su različiti kod sva tri hemotipa. Cineol, jedan od hemotipova ruzmarina sadržavao je 1,8-cineol (49,05%),  $\alpha$ -pinen (10,08%) i kamfor (12,62%). Verbenon uključuje 1,8-cineole (13,66%),  $\alpha$ -pinen (13,05%) i kamfor (15,58%). Hemotip kamfor je sadržavao 1,8-cineol (24,48%),  $\alpha$ -pinen (21,03%) i kamfor (19,20%). Prema navodima **Özcan i Chalchat (2008)** etarska ulja ruzmarina, zavisno od vodećih komponenti, podeljena su na dva hemotipa, jedan sa više od 40% 1,8-cineola, a drugi sa skoro istim procentom 1,8-cineola,  $\alpha$ -pinen i kamfora. Slične rezultate navodi **Takayama i sar. (2016)** u čijim istraživanjima su vodeće komponente etarskog ulja ruzmarina bile cineol (28,5%), kamfor (27,7%), i  $\alpha$ -pinen (21,3%).

Monoterpeni sadrže u svojoj strukturi deset C atoma, odnosno sastoje se iz 2 izoprenske jedinice. Međumolekulske sile koje se javljaju kod organskih jedinjenja su dipol-dipol interakcija i Vander-Vals-ove sile. Kod nepolarnih ili slabo polarnih jedinjenja javljaju se VanderVals-ove sile. Vander-Vals-ove sile su veoma slabe tako da je tačka topljenja nepolarnih jedinjenja niža od one kod polarnih jedinjenja. Alkoholni ili hidrokso derivati monoterpena su jedinjenja koja sadrže jednu ili više OH grupa u molekulu vezanih za ugljovodonični ostatak. Alkoholni derivati monoterpena se po svojim fizičkim osobinama razlikuju od monoterpena zbog prisustva polarne OH grupe. Atom H služi kao most između dva molekula pri čemu je vezan za jedan atom kiseonika kovalentnom vezom, a za drugi atom kisenika u drugom molekulu dipol-dipol vezom. Vodonična veza je vrsta jake dipol-dipol interakcije. Za razlaganje vodonične veze potrebna je veća energija zbog čega im je i tačka ključanja, odnosno isparavanja viša. Polarna karbonilna grupa omogućava dipol-dipol interakcije. Takođe i prisustvo acetatne grupe u menthyl acetatu pojačava aktivnost same komponente. Seskviterpeni sadrže u svojoj strukturi petnaest ugljenikovih atoma, odnosno

nastaju kuplovanjem tri izoprenske jedinice. Seskviterpeni su veće molekulske mase od monoterpena (**Perišić Janjić, 1987; Dimitrijević i sar., 1987; Piletić i Milić, 1989; Burt, 2004; Plavšić i sar., 2020.**).

Prisustvo funkcionalne grupe, aromatičnog jezgra, vrsta međumolekulske veze kao i veličina i struktura molekula utiču na količinu energije potrebnu za odvijanje hemijske reakcije razdvajanja komponenti odnosno na brzinu isparavanja. S obzirom da su organske reakcije vremenske reakcije brzina razdvajanja komponenti u smeši meri se retencionim vremenom. Za izdvajanje teže isparljivih frakcija potrebno je duže vreme u odnosu na lakše isparljive frakcije (**Perišić Janjić, 1987; Dimitrijević i sar., 1987; Piletić i Milić, 1989; Burt, 2004; Plavšić i sar., 2020.**).

#### 5.4. MIC i MFC etarskih ulja za ispitivane plesni

Minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) i minimalne fungicidne koncentracije (MFC) ispitivanog etarskog ulja mente prikazane su u tabeli 5.11.

**Tabela 5.11.** MIC i MFC ( $\mu\text{l/ml}$ ) etarskog ulja mente za testirane plesni

Plesni	Etarsko ulje mente ( $\mu\text{l/ml}$ )	
	MIC	MFC
<i>Alternaria alternata</i>	0,4	1,7
<i>Aspergillus flavus</i>	1,7	227,2
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,8	113,6
<i>Aspergillus niger</i>	1,7	7,1
<i>Aspergillus versicolor</i>	0,4	14,2
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0,2	1,7
<i>Fusarium proliferatum</i>	1,7	3,5
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	0,8	1,7
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	0,8	454,5
<i>Penicillium expansum</i>	0,4	1,7
<i>Penicillium oxalicum</i>	0,8	56,8

Kod etarskog ulja mente (Tabela 5.14.) MIC vrednosti bile su u opsegu 0,2-1,7  $\mu\text{l/ml}$ . Najniža MIC vrednost dobijena je za *C. cladosporioides* (0,2  $\mu\text{l/ml}$ ), dok je najviša vrednost utvrđena kod *A. flavus*, *A. niger* i *F. proliferatum* (1,7  $\mu\text{l/ml}$ ). Dobijene MFC vrednosti (Tabela 5.14.) bile su u opsegu 1,7-454,5  $\mu\text{l/ml}$ . Najniža MFC vrednost dobijena je za *A. alternata*, *C. cladosporioides*, *F. sporotrichioides* i *P. expansum* (1,7  $\mu\text{l/ml}$ ). Najviša ispitivana vrednost MFC (454,5  $\mu\text{l/ml}$ ) pokazala je fungicidno delovanje prema *P. aurantiogriseum*. Upoređivanjem dobijenih vrednosti za MIC i MFC može se zapaziti da je menta ispoljila najjači inhibitorni i fungicidni efekat prema *C. cladosporioides*. Najslabiji antifungalni efekat menta je ispoljila prema *P. aurantiogriseum*.

MIC i MFC ispitivanog etarskog ulja kima prikazane su u tabeli 5.12.

**Tabela 5.12.** MIC i MFC ( $\mu\text{l/ml}$ ) etarskog ulja kima za testirane plesni

Plesni	Etarsko ulje kima ( $\mu\text{l/ml}$ )	
	MIC	MFC
<i>Alternaria alternata</i>	0,4	0,8
<i>Aspergillus flavus</i>	1,7	14,2
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,8	14,2
<i>Aspergillus niger</i>	1,7	7,1
<i>Aspergillus versicolor</i>	0,2	3,5
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0,4	0,4
<i>Fusarium proliferatum</i>	1,7	3,5
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	0,4	0,8
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	0,4	1,7
<i>Penicillium expansum</i>	0,2	0,8
<i>Penicillium oxalicum</i>	0,8	28,4

Kod etarskog ulja kima (Tabela 5.15.) MIC vrednosti bile su u opsegu 0,2-1,7 ( $\mu\text{l/ml}$ ). Najniža MIC vrednost dobijena je za *A. versicolor* i *P. expansum* (0,2  $\mu\text{l/ml}$ ). Najviša MIC vrednost (1,7  $\mu\text{l/ml}$ ) uočena je kod *A. flavus*, *A. niger* i *F. proliferatum*. Dobijene MFC vrednosti (Slika 5.21.) bile su u opsegu 0,4-28,4 ( $\mu\text{l/ml}$ ). Najniža MFC vrednost uočena je

kod *C. cladosporioides* (0,4 µl/ml). Najviša MFC vrednost dobijena je za *P. oxalicum* (28,4 µl/ml).

Na osnovu dobijenih vrednosti za MIC i MFC uočava se da je etarsko ulje kima ispoljilo najjači efekat prema *C. cladosporioides* MIC/MFC (0,4 µl/ml), dok je prema *P. oxalicum* zabeležen najslabiji antifungalni efekat.

MIC i MFC ispitivanog etarskog ulja ruzmarina prikazane su u tabeli 5.13.

**Tabela 5.13.** MIC I MFC (µl/ml) etarskog ulja ruzmarina za testirane plesni

Plesni	Etarsko ulje ruzmarina (µl/ml)	
	MIC	MFC
<i>Alternaria alternata</i>	1,7	14,2
<i>Aspergillus flavus</i>	14,2	227,2
<i>Aspergillus fumigatus</i>	3,5	227,2
<i>Aspergillus niger</i>	14,2	113,6
<i>Aspergillus versicolor</i>	0,8	28,4
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1,7	3,5
<i>Fusarium proliferatum</i>	7,1	14,2
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	3,5	7,1
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	1,7	227,2
<i>Penicillium expansum</i>	1,7	14,2
<i>Penicillium oxalicum</i>	3,5	454,5

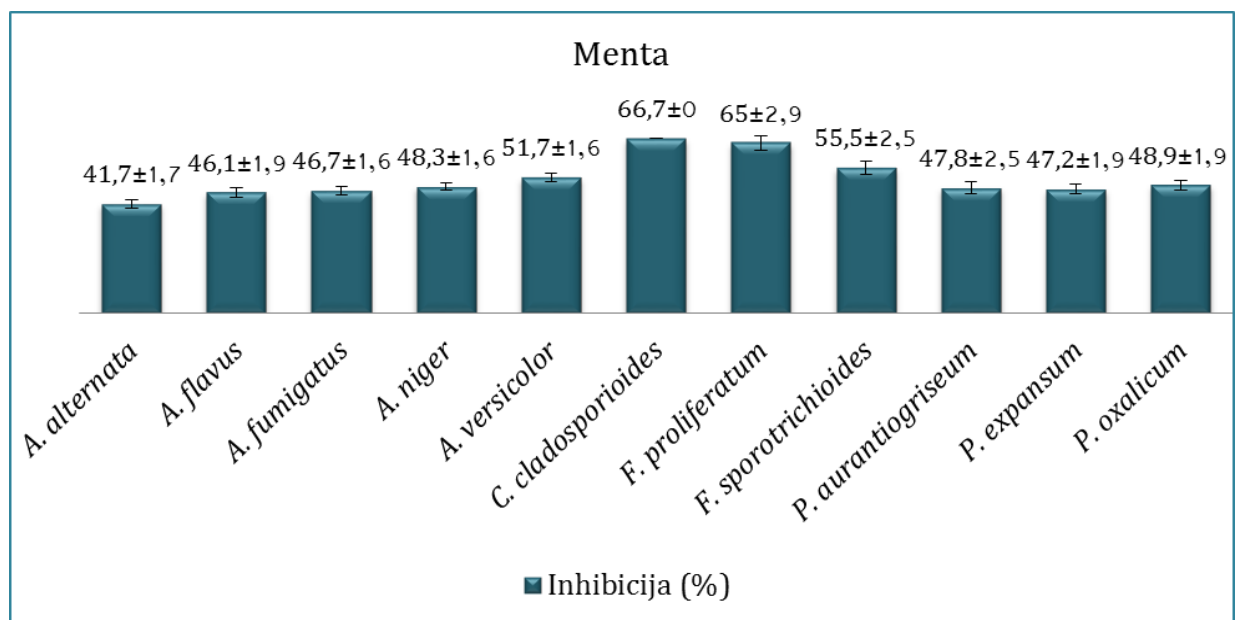
Kod etarskog ulja ruzmarina (Tabela 5.13.) MIC vrednosti bile su u opsegu 0,8-14,2 µl/ml. Najniža MIC vrednost dobijena je za *A. versicolor* (0,8 µl/ml). Najviša MIC vrednost uočena je kod *A. flavus* i *A. niger* (14,2 µl/ml).

Najniža MFC vrednost (Tabela 5.13.) dobijena je za *C. cladosporioides* (3,5 µl/ml), dok je prema *P. oxalicum* najveća koncentracija (454,5 µl/ml) pokazala fungicidno delovanje. Aktivnost je bila najviše izražena prema *C. cladosporioides*. Najslabiji antifungalni efekat ruzmarin je ispoljio prema *P. oxalicum*.



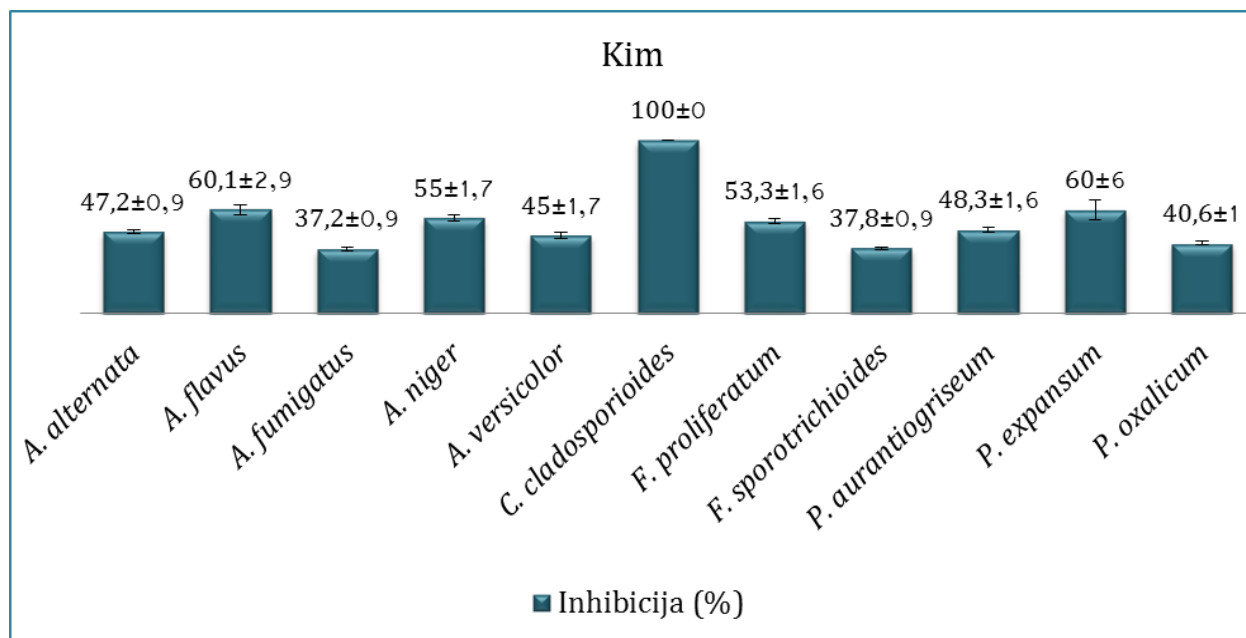
Upoređivanjem dobijenih vrednosti MIC može se zapaziti da su kim i menta bili efikasniji u inhibiciji rasta plesni u odnosu na ruzmarin.

Nakon izlaganja delovanju etarskog ulja mente na testirane izolate u količinama koje odgovaraju vrednostima MIC ( $\mu\text{l/ml}$ ) tokom 72 h prosečna inhibicija rasta plesni bila je 51,4%. Zabeležene vrednosti inhibicije bile su u opsegu 41,7%-66,7% (Slika 5.18.). Najmanja inhibicija uočena je kod *A. alternata* (41,7%) pri vrednosti MIC 0,4  $\mu\text{l/ml}$ . Najviši stepen inhibicije uočen je kod *C. cladosporioides* (66,7%), a postignut je pri najmanjom vrednosti MIC (0,2  $\mu\text{l/ml}$ ). Visok stepen inhibicije (65%) zabeležen je kod *F. proliferatum*, ali je postignut pri najvećoj vrednosti MIC (1,7  $\mu\text{l/ml}$ ).



**Slika 5.18.** Inhibicija rasta testiranih izolata nakon 72 h kontakta sa etarskim uljem mente (MIC  $\mu\text{l/ml}$ ) (srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija)

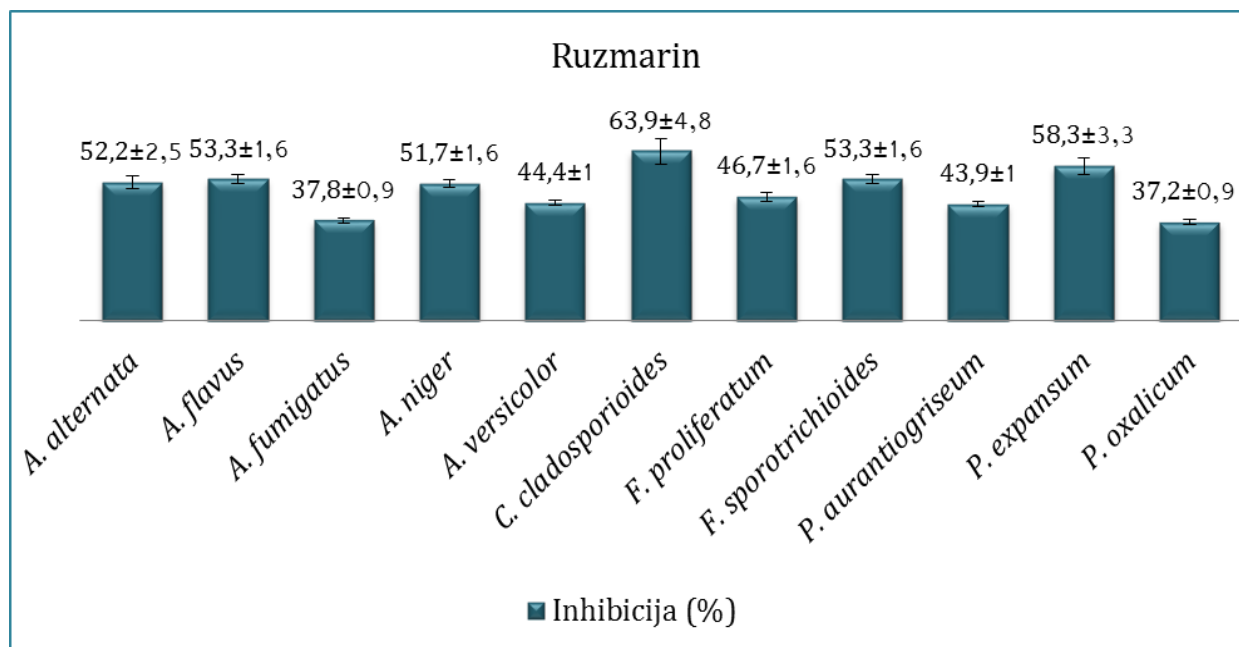
Efekat etarskog ulja kima na testirane izolate tokom 72 h delovanja u količinama vrednosti MIC ( $\mu\text{l/ml}$ ) u proseku iznosio je 53,1%. Stopa inhibicije kretala se od 37,2% do 100% (Slika 5.19.).



**Slika 5.19.** Inhibicija rasta testiranih izolata nakon 72 h kontakta sa etarskim uljem kima (MIC  $\mu\text{l/ml}$ ) (srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija)

Najmanja inhibicija postignuta je kod *A. fumigatus* (37,2%) pri vrednosti MIC 0,8  $\mu\text{l/ml}$ . Najveća inhibicija zabeležena je kod *C. cladosporioides* (100%) za vrednost MIC 0,4  $\mu\text{l/ml}$ . Visok stepen inhibicije (76,7%) zabeležen je kod *A. flavus* i *P. expansum*, pri čemu je najmanja vrednost MIC (0,2  $\mu\text{l/ml}$ ) inhibirala 60% *P. expansum*, dok je kod *A. flavus* zabeležen stepen inhibicije 60,1% pri najvećoj vrednosti MIC (1,7  $\mu\text{l/ml}$ ).

Efekat delovanja etarskog ulja ruzmarina na testirane izolate tokom 72 h u količinama vrednosti MIC ( $\mu\text{l/ml}$ ) u proseku iznosio je 49,3%. Zabeležene vrednosti inhibicije bile su u opsegu 37,2-63,9% (Slika 5.20.). Najmanja inhibicija je uočena kod *P. oxalicum* (37,2%) za vrednost MIC ( $\mu\text{l/ml}$ ) 3,5  $\mu\text{l/ml}$ . Najveća inhibicija zabeležena je kod *C. cladosporioides* (63,9%) za vrednost MIC (1,7  $\mu\text{l/ml}$ ). Značajan stepen inhibicije (58,3%) postignut je kod *P. expansum*sa vrednosti MIC (1,7  $\mu\text{l/ml}$ ).

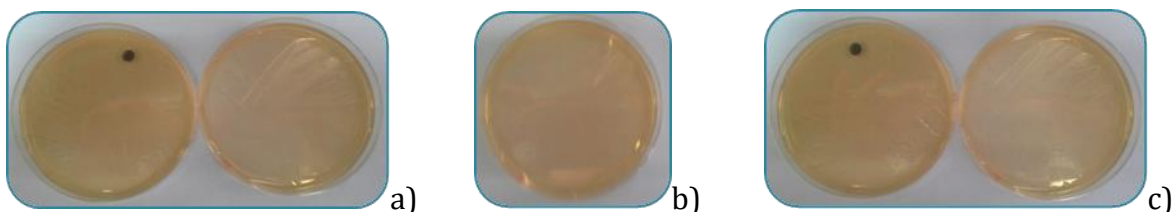


**Slika 5.20.** Inhibicija rasta testiranih izolata nakon 72 h kontakta sa etarskim uljem ruzmarina (MIC  $\mu\text{l/ml}$ ) (srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija)

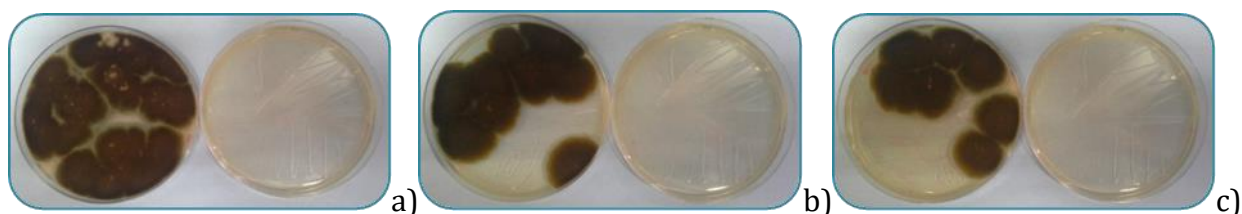
Delovanjem etarskih ulja u količinama vrednosti MIC ( $\mu\text{l/ml}$ ) na testirane izolate najveća stopa inhibicije zabeležena je kod *C. cladosporioides* 66,7%, 100% i 63,9% za mentu, kim i ruzmarin, respektivno.

Rezultati za MFC pokazuju visoku aktivnost ulja mente, kima i ruzmarina prema *C. cladosporioides*. Visoku aktivnost pokazali su i menta i kim prema *A. alternata*, *F. sporotrichioides* i *P. expansum*. Ulja mente, kima i ruzmarina ispoljila su umerenu aktivnost prema *F. proliferatum*. Umerenu aktivnost menta i kim ispoljili su prema *A. niger* i *A. versicolor*. Ulje kima pokazalo je visoku aktivnost prema *P. aurantiogriseum* i umerenu prema *A. flavus* i *A. fumigatus*, dok su ulja mente i ruzmarina bila manje efikasna. Sva tri etarska ulja bila su manje efikasna prema *P. oxalicum*.

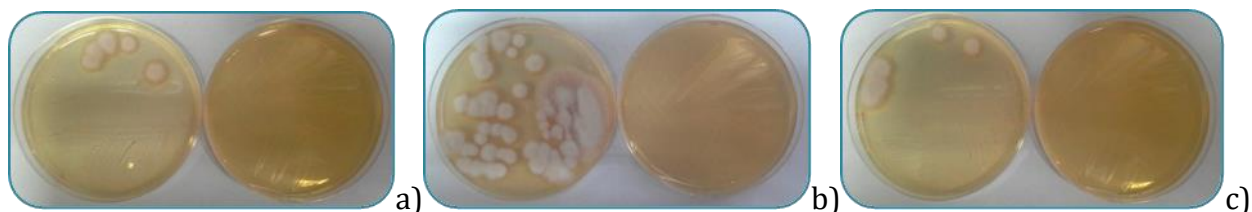
Vrednosti za MIC i MFC za etarska ulja mente, kima i ruzmarina prikazane su na slikama 5.21.-5.31.



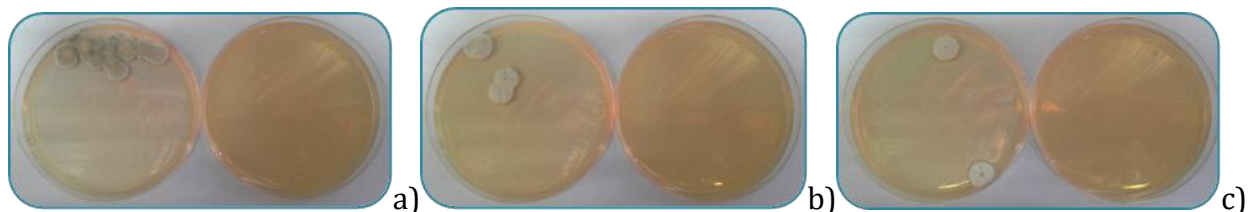
**Slika 5.21.** MIC i MFC vrednosti etarskih ulja: a) menta (MIC 0,2µl/ml; MFC 1,7µl/ml) b) kim (MIC i MFC 0,4µl/ml) i c) ruzmarin (MIC 1,7µl/ml; MFC 14,2µl/ml) za *C. cladosporioides*



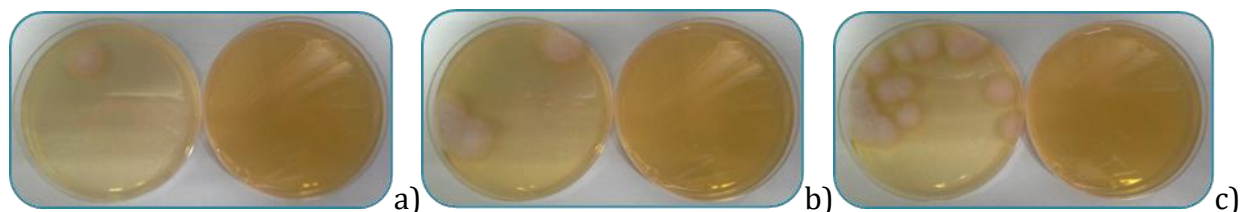
**Slika 5.22.** MIC i MFC vrednosti etarskih ulja: a) menta MIC (0,4µl/ml); MFC (1,7µl/ml), b) kim MIC (0,4µl/ml); MFC (0,8µl/ml) i c) ruzmarin MIC (1,7µl/ml) MFC (14,2µl/ml) za *A. alternata*



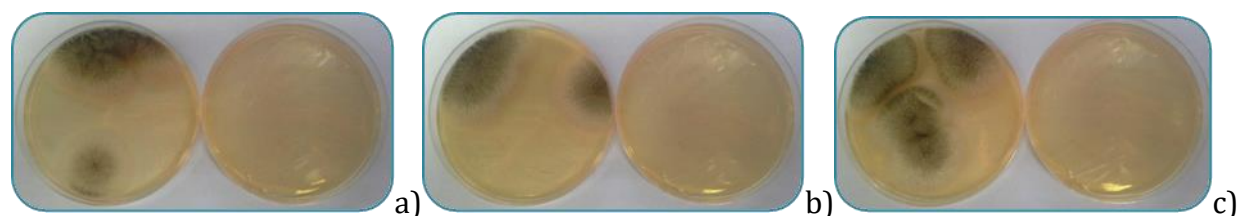
**Slika 5.23.** MIC i MFC vrednosti etarskih ulja: a) menta MIC (0,8µl/ml); MFC (1,7µl/ml), b) kim MIC (0,4µl/ml); MFC (0,8µl/ml) i c) ruzmarin MIC (3,5µl/ml); MFC (7,1µl/ml) za *F. sporotrichioides*



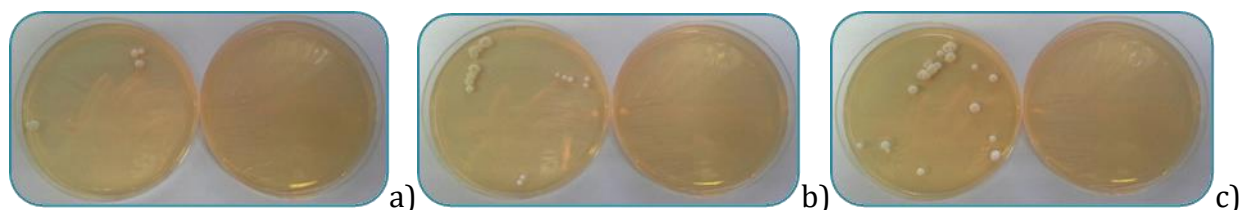
**Slika 5.24.** MIC i MFC vrednosti etarskih ulja: a) menta MIC (0,4µl/ml); MFC (1,7µl/ml), b) kim MIC (0,2µl/ml); MFC (0,8µl/ml) i c) ruzmarin MIC (1,7 µl/ml); MFC (14,21µl/ml) za *P. expansum*



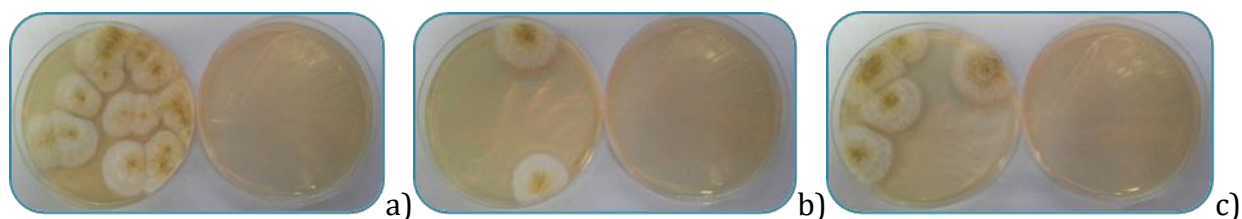
**Slika 5.25.** MIC i MFC vrednosti etarskih ulja: a) menta MIC (1,7µl/ml); MFC (3,5µl/ml), b) kim MIC (1,7µl/ml); MFC (3,5µl/ml) i c) ruzmarin MIC (7,1µl/ml); MFC (14,2µl/ml) za *F. proliferatum*



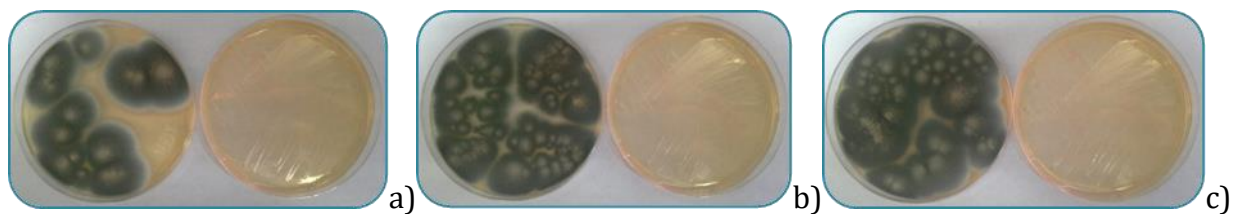
**Slika 5.26.** MIC i MFC vrednosti etarskih ulja: a) menta MIC (1,7µl/ml); MFC (7,1µl/ml), b) kim MIC (1,7µl/ml); MFC (7,1µl/ml) i c) ruzmarin MIC (14,2µl/ml); MFC (113,6µl/ml) za *A. niger*



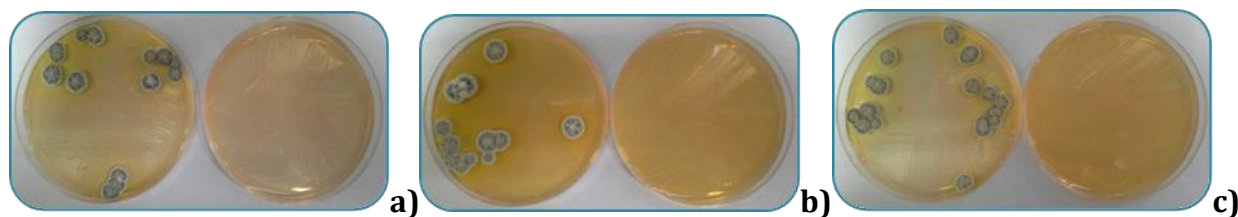
**Slika 5.27.** MIC i MFC vrednosti etarskih ulja: a) menta, MIC (0,4µl/ml); MFC (14,2µl/ml) b) kim MIC (0,2µl/ml); MFC (3,5µl/ml) i c) ruzmarin MIC (0,8µl/ml); MFC (28,4µl/ml) za *A. versicolor*



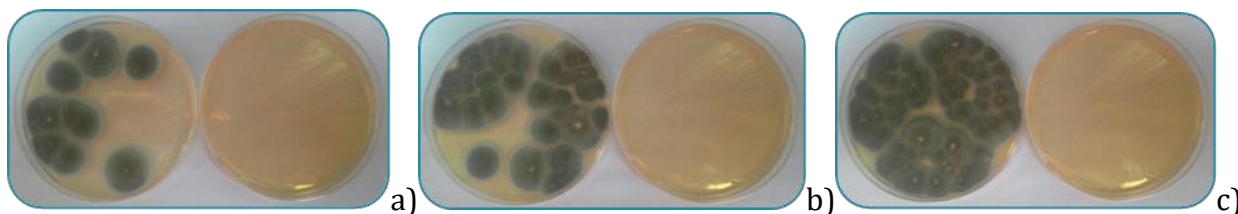
**Slika 5.28.** MIC i MFC vrednosti etarskih ulja: a) menta MIC (1,7µl/ml); MFC (227,2µl/ml), b) kim MIC (1,7µl/ml); MFC (14,2µl/ml) i c) ruzmarin MIC (14,2µl/ml); MFC (227,2µl/ml) za *A. flavus*



**Slika 5.29.** MIC i MFC vrednosti etarskih ulja: a) menta MIC (0,8 $\mu$ l/ml); MFC (113,6 $\mu$ l/ml), b) kim MIC (0,8 $\mu$ l/ml); MFC (14,2 $\mu$ l/ml) i c) ruzmarin MIC (3,5 $\mu$ l/ml); MFC (227,2 $\mu$ l/ml) za *A. fumigatus*



**Slika 5.30.** MIC i MFC vrednosti etarskih ulja: a) menta MIC (0,8 $\mu$ l/ml); MFC (454,5 $\mu$ l/ml), b) kim MIC (0,4 $\mu$ l/ml); MFC (1,7 $\mu$ l/ml) i c) ruzmarin MIC (1,7 $\mu$ l/ml); MFC (227,2 $\mu$ l/ml) za *P. aurantiogriseum*



**Slika 5.31.** MIC i MFC vrednosti etarskih ulja: a) menta MIC (0,8 $\mu$ l/ml) MFC (56,8 $\mu$ l/ml), b) kim MIC (0,8 $\mu$ l/ml) MFC (28,4 $\mu$ l/ml) i c) ruzmarin za MIC (3,5 $\mu$ l/ml) MFC (454,5 $\mu$ l/ml) *P. oxalicum*

Dobijeni rezultati su u skladu sa literaturnim navodima. Prema rezultatima antifungalne aktivnosti mente koje su naveli **Kazemi i sar. (2012)**, MIC i MFC vrednosti za izolate *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus* i *Mucor* sp. bile su 1 $\mu$ g/ml, a za *F. oxysporum* 0,5  $\mu$ g/ml. **Mousavi i Raftos (2012)** navode da je etarsko ulje mente delovalo inhibitorno na *P. expansum*, a MIC i MFC vrednosti bile su 0,03 mg/ml i 0,085 mg/ml. Prema navodima **Ferdes i Ungureanu (2012)** etarsko ulje mente pokazalo je snažan antifungalni efekat i pri koncentraciji od 20  $\mu$ l došlo je do inhibicije rasta *A. niger*, a rast *Fusarium oxisporum*, *Monascus purpureus* i *Penicillium hirsutum* smanjem je za oko 70%. **Soković i sar. (2009)** su objavili rezultate ispitivanja antifungalnog efekta rastvora mente u etanolu

(makrodiluciona metoda) i rastvora mente u Tween-u (mikrodiluciona metoda) na izolate plesni *A. alternata*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. versicolor*, neke *Penicillium* vrste. Vrednosti MIC bile su u intervalu od 1,5 do 3,0  $\mu\text{l/ml}$  (makrodiluciona metoda) i 1,0 do 2,5  $\mu\text{l/ml}$  (mikrodiluciona metoda). Vrednosti MFC bile su od 1,5 do 3,0  $\mu\text{l/ml}$  (makrodiluciona metoda) i od 1 do 2,5  $\mu\text{l/ml}$  (mikrodiluciona metoda). **Mahboubi i Kazempour (2014)** navode da je etarsko ulje mente primenjenom bujon-mikrodilucionom metodom pokazalo antifungalno delovanje na *A. niger*, *A. parasiticus* i *A. flavus*, a izmerene MIC i MFC vrednosti bile su 0,5/1; 1/1 i 1/2  $\mu\text{l/ml}$ . **Tyagi i Malik (2011)** uradili su uporedno ispitivanje antimikrobne aktivnosti ulja mente (tečna faza) i isparenja (parna faza). Prema rezultatima koje su dobili došli su do zaključka da je isparenje pokazalo bolji antimikrobni efekat. Para ulja u količini od 40  $\mu\text{l}$  potpuno je inhibirala *A. niger*, *Mucor* sp. i *Fusarium* sp. MIC vrednosti za *A. niger*, *A. flavus* i *Mucor* spp. bile su 1,13 mg/ml, a MFC 2,25 mg/ml. Nešto veće vrednost MIC/MFC uočene su kod *P. digitatum* 2,25/4,5 mg/ml. Razlike u delovanju tečne i parne faze autori objašnjavaju u različitim komponentama koje ulaze u sastav ulja i isparenja. Naime, u sastavu ulja bilo je više oksigenovanih monoterpena (63,3%) u odnosu na monoterpene ugljovodonike (27,0%). Vodeća komponenta u sastavu ulja bila je mentol (19,1%), zatim izo-menton (14,8%). U sastavu isparenja ulja bilo je više monoterpena ugljovodonika (62,8%) u odnosu na oksigenovane monoterpene (29,3%), a vodeće komponente bile su limonen (18,4%),  $\alpha$ -pinen (17,3%) i  $\beta$ -pinen (13,9%). Verovatno je smanjenje količine mentola, a povećanje količine  $\alpha$ -pinena,  $\beta$ -pinena i limonena razlog veće antimikrobne efikasnosti isparenja u odnosu na ulje. Dakle, veća oštećenja ćelija očekuju se delovanjem monoterpena ugljovodonika. Kako navode neki autori monoterpeni ispoljavaju antifungalni efekat na nivou ćelijske membrane i enzima koji su ugrađeni u ćelijsku membranu. Njihovim delovanjem dolazi do promene u sastavu masnih kiselina unutar membrane, što remeti njen integritet i narušava funkciju membrane (**Uribe i sar., 1985; Sikkema i sar., 1994; Prashar i sar., 2003; Maffei i sar., 2001**). Slično mišljenje su imali i **Soković i sar. (2009)**. Prema pomenutim autorima, mentol nije jedina komponenta koja je odgovorna za antimikrobni efekat. Monoterpeni ugljovodonici takođe mogu imati važnu ulogu u antimikrobnim reakcijama. **Tarek i sar. (2014)** su ispitivali antimikrobni efekat etarskih ulja mente i kima. Prema rezultatima koje su objavili, MIC vrednost za testirani izolat *A. niger* bile su  $\leq 1 \mu\text{l/ml}$ . Delovanjem etarskog ulja kima u koncentraciji od 1  $\mu\text{l/ml}$

zabeležena je inhibicija rasta 100% kod *A. niger*, *C. cladosporioides* i *Stachybotrys chartarum*, dok je kod *A. alternata* inhibicija rasta bila 99,29% (**Zabka i sar., 2014**). Prema rezultatima ispitivanja **Plavšić (2015)** navodi da su se etarska ulja mente i kima pokazala efikasna u inhibiciji rasta plesni. Ispitivanjem antifungalnog efekta ulja mente uočeno je da je najniža MIC vrednost dobijena za *A. versicolor*, *E. herbariorum* i *P. expansum* (0,4 µl/ml), dok je najviša vrednost utvrđena za *A. niger* (3,5 µl/ml). Najniža MFC vrednost dobijena je za *E. herbariorum* (0,4 µl/ml), dok prema *A. niger* najveća koncentracija (454,5 µl/ml) nije pokazala fungicidno delovanje. Kod etarskog ulja kima najniža MIC vrednost dobijena je za *E. herbariorum* (0,2 µl/ml), a najviša za *A. niger* (0,8 µl/ml). Najniža MFC vrednost dobijena je za *E. herbariorum* (0,4 µl/ml), a najviša za *A. niger* (113,6 µl/ml). Kim je ispoljio najjači inhibitorni i fungicidni efekat prema *E. herbariorum*, dok je prema *A. niger* zabeležen najslabiji antifungalni efekat.

Prema rezultatima **Kocić- Tanackov (2012)** koncentracija od 0,35 ml/100 ml ekstrakta kima je bila fungicidna (MFC) prema *C. cladosporioides*, dok je 0,70 ml/100 ml potpuno inhibirala rast *A. carbonarius*, *A. wentii*, *E. nidulans*, *E. rubrum*, *E. herbariorum*, *E. chevalieri*, *C. cladosporioides*, *P. glabrum*, *P. brevicompactum*, *F. subglutinans* i *F. verticillioides*. Na rast *P. chrysogenum* i *P. aurantiogriseum* ista koncentracija bila je inhibitorna (MIC). Najslabije delovanje ovaj ekstrakt je ispoljio prema *A. niger*, *A. versicolor*, *F. oxysporum* i *F. proliferatum*. Prema navodima **Begum i sar. (2008)** najniža MIC vrednost (50 ppm) etarskog ulja kima uočena je kod izolata *A. alternata*, *C. lunata*, *B. theobromae* i *M. phaseolina*. MFC vrednosti bile su u opsegu od 200 do 400 ppm. Prema navodima **Kocić- Tanackov i sar. (2020)** etarsko ulje kima ispoljilo je antifungalni efekat prema *Penicillium* vrstama i *Mucor* sp. Koncentracija od 0,7 µl/ml bila je inhibitorna (MIC) prema *P. carneum*, a koncentracija od 1,5 µl/ml prema *P. aurantiogriseum*, *P. cavenicola*, *P. nalgiovense*, *P. polonicum* i *M. racemosus*. Koncentracija etarskog ulja kima od 1,5 µl/ml bila je fungicidna (MFC) prema *P. carneum*, dok je za izolate *P. aurantiogriseum*, *P. cavenicola*, *P. nalgiovense*, *P. polonicum* i *M. racemosus* koncentracija etarskog ulja kima od 4,5 µl/ml pokazala fungicidno dejstvo.

Prema navodima **Bomfirm i sar. (2015)** etarsko ulje ruzmarina delovalo je inhibitorno na rast *F. verticillioides* sa MIC i MFC vrednošću 150 µg/ml. Na osnovu



ispitivanja **Jiang i sar. (2011)** etarsko ulje ruzmarinaje ispoljilo antifungalni efekat prema *A. niger* pri čemu je MIC vrednost bila 1000 µg/ml, a MFC vrednost 4000 µg/ml. Slično su uočili i **Daferera i sar. (2003)** koji su izneli da je etarsko ulje ruzmarina u količini od 1000µg/ml 72% inhibiralo rast micelija *Fusarium* vrsta.

Prema brojnim literaturnim podacima, antifungalni efekat etarskih ulja zavisi od komponenata koje ulaze u sastav ulja, njihovog međusobnog odnosa, geografskog i sezonskog porekla, kao i rastvorljivosti pojedinih komponenti ulja u vodi (**Xianfei i sar., 2007; Soković i sar., 2009; Tyagi i Malik, 2011; Kazemi i sar., 2012; Nikolić i sar., 2013**). Mentol je vodeća komponenta u ulju mente i bio je zastupljen sa 39,9%. Glavna komponenta u ulju kima bio je karvon (72,67%). Karvon poseduje veoma jaku antifungalnu aktivnost (**Knobloch i sar., 1998; Adam i sar., 1998**). Mentol i 1,8-cineol su komponente u ulju mente koje su odgovorne za antifungalna svojstva ali slabija u odnosu na karvon (**Griffin, 2000**). Prema rezultatima **Soković i sar. (2012)** antifungalni potencijal komponenti mogao bi se poređati prema sledećem nizu: mentol>1,8-cineol>linalol>kamfor>limonen. Glavna komponenta u ulju ruzmarina bila je 1,8-cineol (44,73%). Bolja antifungalna svojstva karvona mogu biti posledica njegove bolje rastvorljivosti u vodi. Mala rastvorljivost ulja i komponenti u vodi ograničava njihovo širenje kroz medijum. Komponente bolje rastvorljive u vodi, kao karvon i 1,8-cineol, brže difunduju kroz medijum. Ugljovodonici, komponente ulja, ili ostaju na površini medijuma ili ispare. Još jedan od razloga slabije antifungalne aktivnosti etarskog ulja mente može biti veća količina mentil acetata koji umanjuje antifungalne karakteristike (**Griffin, 2000; Soković i sar., 2009**).

Antimikrobna aktivnost etarskih ulja zavisi od kombinacije i odnosa različitih jedinjenja koja se nalaze u njihovom sastavu. Monoterpeni su glavni sastojci etarskih ulja, a mnogi od njih poseduju antifungalnu, antiaflatoksigenu i antioksidativnu aktivnost (**Kedia i sar., 2014**). Antimikrobna aktivnost terpena zavisi od hemijske strukture. Fenolna jedinjenja su efikasnija od nefenolnih zbog hidroksilne grupe, a takođe i prisustva fenolnog prstena. Efikasnost ne-fenolnih jedinjenja zavisi od vrste alkil grupe, alkenil je aktivniji od alkila (**Ruiz i Flotats, 2014**).

## 5.5. Uticaj dodatka etarskih ulja lekovitih i začinskih biljaka u antifungalnoj zaštiti testanih kora

### 5.5.1. Ukupan broj plesni testanih kora

Rezultati ukupnog broja plesni u uzorcima testanih kora od belog pšeničnog brašna Tip 500 sa dodatkom etarskog ulja mente, kima i ruzmarina, na dan proizvodnje i tokom perioda skladištenja na temperaturi od 8°C prikazani su u Tabeli 5.14. i na Slikama 5.32., 5.33. i 5.34.

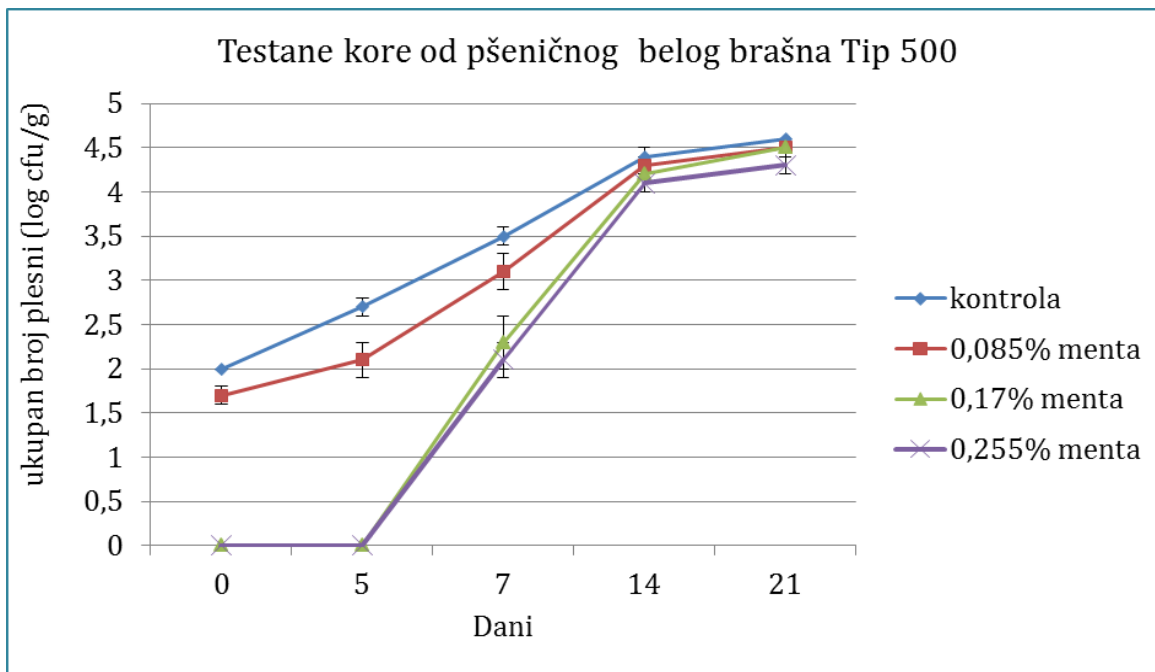
**Tabela. 5.14.** Ukupan broj plesni uzoraka testanih kora od belog pšeničnog brašna Tip 500 sa dodatkom etarskog ulja mente, kima i ruzmarina (log cfu/g ± standardna devijacija)

Oznaka uzorka (PBB)	Period ispitivanja (dani)				
	nulti	5	7	14	21
Kontrola	2,0±0 <sup>ad</sup>	2,7±0,1 <sup>be</sup>	3,5±0,1 <sup>cf</sup>	4,4±0,1 <sup>dc</sup>	4,6±0 <sup>ec</sup>
0,085% M	1,7±0,1 <sup>ac</sup>	2,1±0,2 <sup>bd</sup>	3,1±0,2 <sup>ce</sup>	4,3±0,1 <sup>db</sup>	4,5±0 <sup>ec</sup>
0,17% M	0±0 <sup>aa</sup>	0±0 <sup>aa</sup>	2,3±0,3 <sup>bb</sup>	4,2±0,2 <sup>cb</sup>	4,5±0,1 <sup>dc</sup>
0,255% M	0±0 <sup>aa</sup>	0±0 <sup>aa</sup>	2,1±0,2 <sup>bb</sup>	4,1±0,2 <sup>cb</sup>	4,3±0,1 <sup>cb</sup>
0,085% K	0±0 <sup>aa</sup>	0,1±0,2 <sup>aa</sup>	2,6±0,3 <sup>bd</sup>	4,3±0 <sup>cb</sup>	4,5±0,1 <sup>dc</sup>
0,17% K	0±0 <sup>aa</sup>	0±0 <sup>aa</sup>	1,6±0,3 <sup>ba</sup>	3,1±0,2 <sup>ca</sup>	4,3±0,1 <sup>db</sup>
0,255% K	0±0 <sup>aa</sup>	0±0 <sup>aa</sup>	1,7±0,2 <sup>ba</sup>	3,0±0,1 <sup>ca</sup>	4,1±0,2 <sup>a</sup>
0,71% R	1,2±0,2 <sup>ab</sup>	1,9±0,1 <sup>bd</sup>	3,0±0,1 <sup>ce</sup>	4,4±0,1 <sup>dc</sup>	4,6±0 <sup>ec</sup>
1,42% R	1,0±0 <sup>a</sup>	1,7±0,1 <sup>bc</sup>	2,5±0,2 <sup>cd</sup>	4,4±0,1 <sup>dc</sup>	4,6±0,1 <sup>ec</sup>
2,13% R	0±0 <sup>aa</sup>	1,3±0,2 <sup>bb</sup>	2,0±0,1 <sup>cb</sup>	4,3±0 <sup>db</sup>	4,5±0,1 <sup>ec</sup>

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa. Različita velika slova u eksponentima kolona označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti između uzoraka, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Radi jasnijeg pregleda rezultata, ukupan broj plesni kod uzoraka testanih kora od belog pšeničnog brašna Tip 500 prikazan je na Slikama 5.32., 5.33. i 5.34.



**Slika 5.32.** Uticaj etarskog ulja mente na promenu ukupnog broja plesni testanih kora od belog pšeničnog brašna Tip 500

Ukupan broj plesni testanih kora od belog pšeničnog brašna Tip 500 bez dodatka etarskog ulja mente, kima i ruzmarina (kontrolni uzorak) kretao se u intervalu od  $2,0 \pm 0$  log cfu/g (nulti dan) do  $4,6 \pm 0$  log cfu/g (nakon 21 dana).

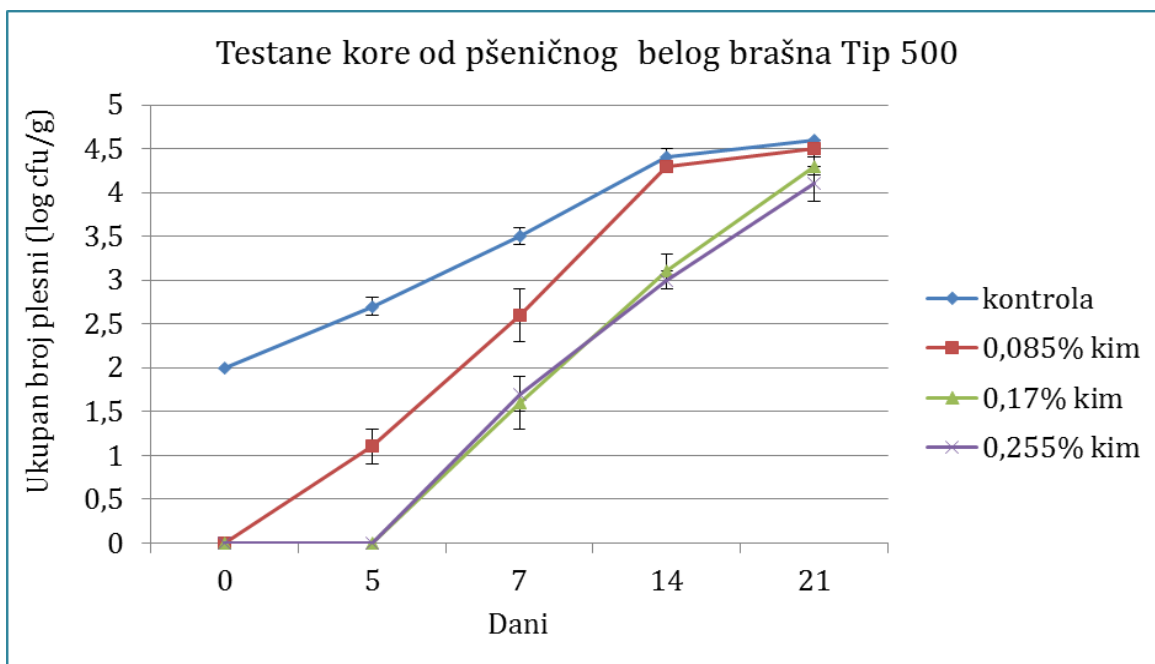
Kod uzorka testanih kora od belog pšeničnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085% ukupan broj plesni nultog dana bio je za 0,3 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 5 i 7 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka manji za 0,4 log cfu/g. Posle 14 i 21 dana skladištenja ukupan broj plesni testanih kora sa dodatkom mente u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,1 log cfu/g (Slika 5.32.).

Kod uzoraka testanih kora od belog pšeničnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17% nultog dana i nakon 5 dana skladištenja nije utvrđeno prisustvo plesni. Nakon 7 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je za 1,2 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 14 dana skladištenja ukupan broj plesni kod uzoraka testanih kora sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17% bio je za 0,2 log cfu/g manji u odnosu na kontrolni uzorak, a nakon 21 dana za 0,1 log cfu/g manji u odnosu na kontrolni uzorak (Slika 5.32.).

Kod uzoraka testanih kora od belog pšeničnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255% vrednosti ukupnog broja plesni slične su kao kod uzoraka sa 0,17% mente. Nultog dana i nakon 5 dana skladištenja nije utvrđeno prisustvo plesni. Nakon 7 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 1,4 log cfu/g manji u odnosu na kontrolni uzorak. Nakon 14 i 21 dana skladištenja ukupan broj plesni bio za 0,3 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka (Slika 5.32.).

Kada je etarsko ulje mente primenjeno u koncentracijama od 0,17% i 0,255% pokazalo je najbolje antifungalne efekte na ispitivane testane kore od belog pšeničnog brašna Tip 500 tokom 7 dana skladištenja. Primenom etarskog ulja mente u koncentracijama od 0,17% i 0,255% tokom 7 dana skladištenja uočene su najveće razlike ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka nakon 7 dana skladištenja, a bile su 1,2 log cfu/g i 1,4 log cfu/g, respektivno.

Kod uzoraka testanih kora od belog pšeničnog brašna tip 500 sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085% nultog dana nije utvrđeno prisustvo plesni. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 1,6 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Posle 7 dana skladištenja ukupan broj plesni kod uzoraka testanih kora sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085% bio je manji za 0,9 log cfu/g u odnosu na kontrolni uzorak testanih kora nakon 7 dana skladištenja. Nakon 14 i 21 dana skladištenja testanih kora od belog pšeničnog brašna tip 500 sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085% ukupan broj plesni bio je za 0,1 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka nakon 14 i 21 dana skladištenja (Slika 5.33.).



**Slika 5.33.** Uticaj etarskog ulja kima na promenu ukupnog broja plesni testanih kora od belog pšeničnog brašna tip 500

Kod uzoraka testanih kora od belog pšeničnog brašna tip 500 sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17% nultog dana i nakon 5 dana skladištenja nije utvrđeno prisustvo plesni. Nakon 7 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 1,9 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka nakon 7 dana skladištenja. Nakon 14 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 1,3 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka nakon 14 dana skladištenja. Nakon 21 dana skladištenja testanih kora od belog pšeničnog brašna tip 500 sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17% ukupan broj plesni bio je za 0,3 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka testanih nakon 21 dana skladištenja (Slika 5.33.).

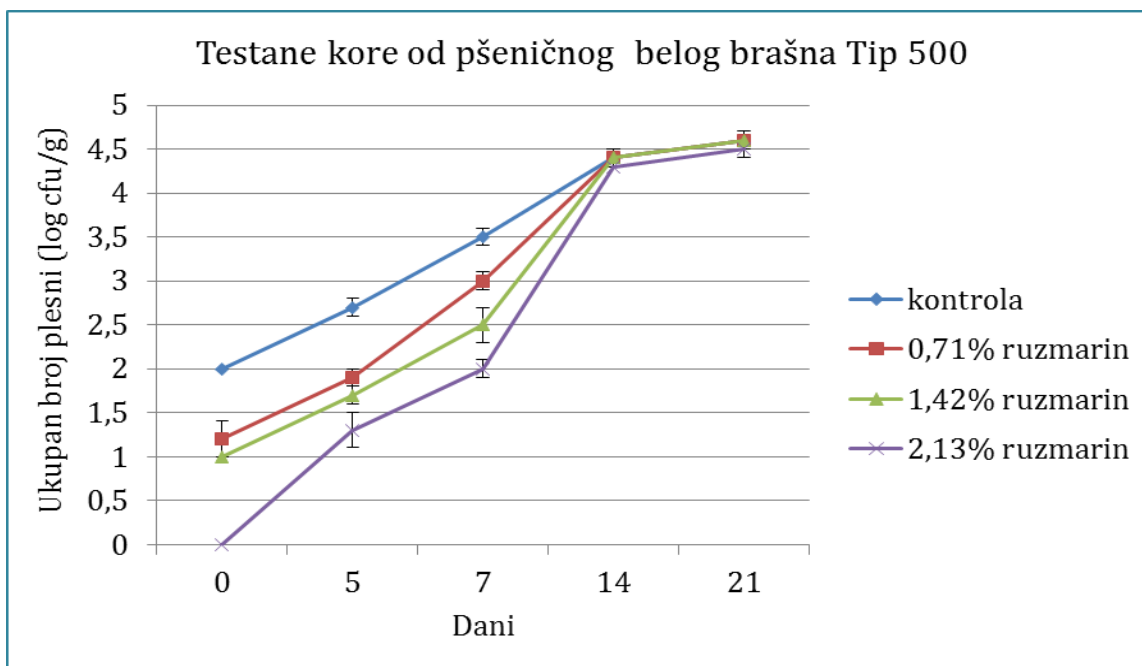
Analizom rezultata ukupnog broja plesni uzoraka testanih kora od belog pšeničnog brašna Tip 500 sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255% nultog dana i nakon 5 dana skladištenja nije utvrđeno prisustvo plesni. Nakon 7 dana skladištenja testanih kora uočen ukupan broj plesni bio je za 1,8 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka nakon 7 dana skladištenja. Posle 14 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je za 1,4 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka nakon 14 dana skladištenja. Nakon 21 dana skladištenja uočena vrednost ukupnog

broja plesni uzoraka testanih kora sa dodatkom 0,255% kima bila je za 0,5 log cfu/g manja u odnosu na vrednost ukupnog broja plesni kontrolnog uzorka nakon 21 dana skladištenja. (Slika 5.33.).

Kada je etarsko ulje kima primenjeno u koncentracijama od 0,17% i 0,255% uočen je najbolji antifungalni efekat na ispitivane testane kore od belog pšeničnog brašna Tip 500 tokom 7 dana skladištenja i dobar antifungalni efekat tokom 14 dana skladištenja. Primenom etarskog ulja kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% tokom 7 dana skladištenja uočene su najveće razlike ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka nakon 7 dana skladištenja, a bile su 1,9 log cfu/g i 1,8 log cfu/g, respektivno. Primenom etarskog ulja kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% tokom 14 dana skladištenja uočene su nešto manje razlike ukupnog broja plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka, a bile su 1,3 log cfu/g i 1,4 log cfu/g, respektivno.

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%, nultog dana, ukupan broj plesni bio je za 0,8 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 0,8 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka, a nakon 7 dana skladištenja za 0,5 log cfu/g manji u odnosu na kontrolni uzorak. Nakon 14 i 21 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je isti kao kod uzoraka kontrolnih uzoraka testanih (Slika 5.34.)

Dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42% nultog dana, nakon 5 i nakon 7 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 1,0 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka nultog dana i nakon 5 i 7 dana skladištenja. Nakon 14 i 21 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je isti kao kod kontrolnih uzoraka. Kod uzoraka testanih kora od belog pšeničnog brašna Tip 500 sa dodatkom ruzmarina u koncentraciji od 2,13% nultog dana nije utvrđeno prisustvo plesni. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 1,4 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 7 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 1,5 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 14 i 21 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je za 0,1 log cfu/g manji u odnosu na kontrolne uzorke. (Slika 5.34.).



**Slika 5.34.** Uticaj etarskog ulja ruzmarina na promenu ukupnog broja plesni testanih kora od belog pšeničnog brašna Tip 500

Kada je etarsko ulje ruzmarina primenjeno u koncentraciji 2,13% pokazalo je najbolji antifungalni efekat na ispitivane testane kore od belog pšeničnog brašna Tip 500 tokom 7 dana skladištenja. Primenom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13% tokom 7 dana skladištenja uočena je najveća razlika ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka nakon 7 dana skladištenja, a bila je 1,5 log cfu/g.

Rezultati ukupnog broja plesni u uzorcima testanih kora sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente, kima i ruzmarina, na dan proizvodnje i tokom perioda skladištenja na temperaturi od 8°C prikazani su u Tabeli 5.15. i Slikama 5.35., 5.36. i 5.37.

**Tabela. 5.15.** Ukupan broj plesni uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente, kima i ruzmarina (log cfu/g  $\pm$  standardna devijacija)

Oznaka uzorka (PIB)	Period ispitivanja (dani)				
	nulti	5	7	14	21
Kontrola	2,4 $\pm$ 0,1 <sup>aD</sup>	2,9 $\pm$ 0,1 <sup>bE</sup>	3,8 $\pm$ 0,1 <sup>cI</sup>	4,9 $\pm$ 0,1 <sup>dG</sup>	5,1 $\pm$ 0,2 <sup>dD</sup>
0,085% M	1,9 $\pm$ 0,1 <sup>aB</sup>	2,4 $\pm$ 0,1 <sup>bC</sup>	2,9 $\pm$ 0,1 <sup>cE</sup>	4,7 $\pm$ 0 <sup>dF</sup>	5,1 $\pm$ 0,2 <sup>eD</sup>
0,17% M	1,8 $\pm$ 0,1 <sup>aB</sup>	2,3 $\pm$ 0 <sup>bC</sup>	2,8 $\pm$ 0,1 <sup>cD</sup>	4,1 $\pm$ 0,2 <sup>dE</sup>	4,9 $\pm$ 0,1 <sup>eD</sup>
0,255% M	1,6 $\pm$ 0,1 <sup>aA</sup>	1,9 $\pm$ 0,1 <sup>bB</sup>	2,7 $\pm$ 0,1 <sup>cC</sup>	3,9 $\pm$ 0,1 <sup>dD</sup>	4,8 $\pm$ 0,1 <sup>eD</sup>
0,085% K	2,2 $\pm$ 0,1 <sup>bC</sup>	1,9 $\pm$ 0,1 <sup>aB</sup>	2,9 $\pm$ 0,1 <sup>cE</sup>	3,6 $\pm$ 0,1 <sup>dB</sup>	4,9 $\pm$ 0,1 <sup>eD</sup>
0,17% K	2,0 $\pm$ 0,1 <sup>bB</sup>	1,5 $\pm$ 0,1 <sup>aA</sup>	2,6 $\pm$ 0,1 <sup>cB</sup>	3,1 $\pm$ 0,2 <sup>dA</sup>	4,0 $\pm$ 0 <sup>eB</sup>
0,255% K	2,0 $\pm$ 0,1 <sup>bB</sup>	1,3 $\pm$ 0,3 <sup>aA</sup>	2,1 $\pm$ 0,2 <sup>bA</sup>	2,9 $\pm$ 0,1 <sup>cA</sup>	3,8 $\pm$ 0,1 <sup>dA</sup>
0,71% R	2,4 $\pm$ 0,1 <sup>bD</sup>	2,6 $\pm$ 0,1 <sup>aD</sup>	3,7 $\pm$ 0,1 <sup>cH</sup>	4,9 $\pm$ 0,1 <sup>dG</sup>	4,8 $\pm$ 0,2 <sup>dD</sup>
1,42% R	2,0 $\pm$ 0 <sup>aB</sup>	2,0 $\pm$ 0,1 <sup>aB</sup>	3,5 $\pm$ 0,2 <sup>bG</sup>	4,1 $\pm$ 0,1 <sup>cE</sup>	4,8 $\pm$ 0,1 <sup>dD</sup>
2,13% R	2,0 $\pm$ 0,1 <sup>aB</sup>	2,0 $\pm$ 0 <sup>aB</sup>	3,0 $\pm$ 0,1 <sup>bF</sup>	3,8 $\pm$ 0,1 <sup>cC</sup>	4,5 $\pm$ 0,2 <sup>dC</sup>

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa. Različita velika slova u eksponentima kolona označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti između uzoraka, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Radi jasnijeg pregleda rezultata, ukupan broj plesni kod uzoraka testanih kora proivenih sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna prikazan je na slikama 5.35., 5.36., i 5.37.

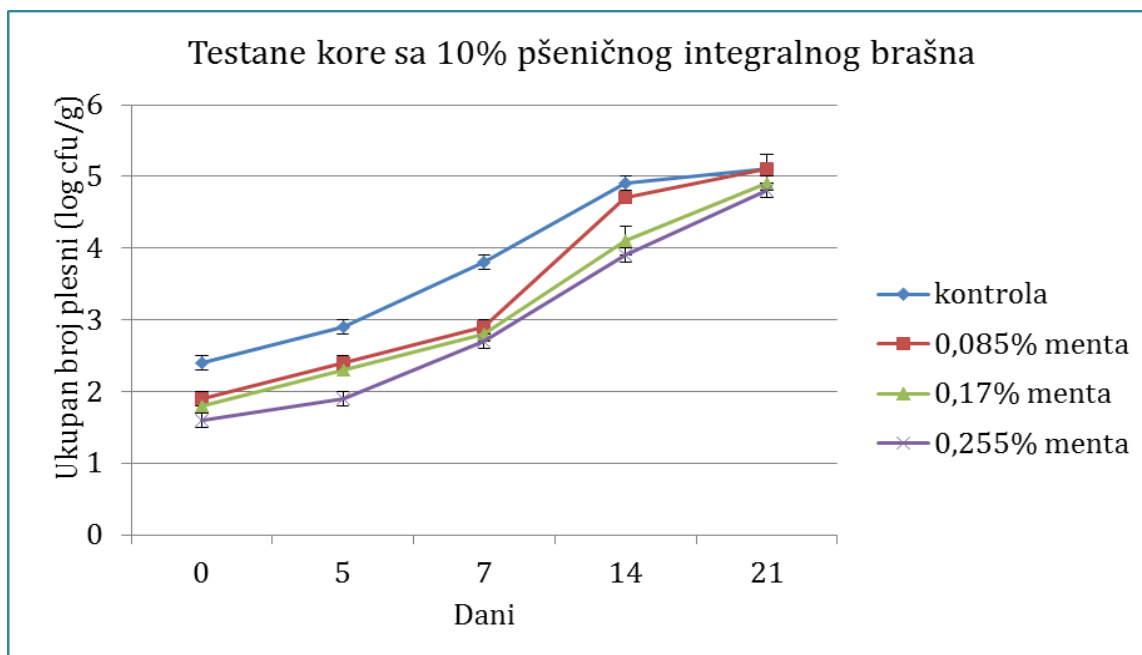
Ukupan broj plesni testanih kora sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna bez dodatka etarskog ulja mente, kima i ruzmarina (kontrolni uzorak) kretao se u intervalu od 2,4 $\pm$ 0,1 log cfu/g (nulti dan) do 5,1 $\pm$ 0,2 log cfu/g (nakon 21 dana).

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085% ukupan broj plesni nultog dana i



nakon 5 dana skladištenja bio je za 0,5 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka nultog dana i nakon 5 dana skladištenja (Slika 5.35.).

Nakon 7 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 0,9 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Ukupan broj plesni nakon 14 dana skladištenja kod uzoraka testanih kora sa 10% pšeničnog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085% bio je manji za 0,2 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 21 dana skladištenja vrednost ukupnog broja plesni bila ista kao kod kontrolnog uzorka. (Slika 5.35.).



**Slika 5.35.** Uticaj etarskog ulja mente na promenu ukupnog broja plesni testanih kora sa dodatkom pšeničnog integralnog brašna

Kod uzoraka testanih kora sa 10% pšeničnog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17% nultog dana i nakon 5 dana skladištenja vrednosti ukupnog broja plesni bile su za 0,6 log cfu/g manje u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka. Nakon 7 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je manji za 1,0 log cfu/g, a nakon 14 dana skladištenja za 0,8 log cfu/g manji u odnosu na ukupan

broj plesni kontrolnih uzoraka. Nakon 21 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 0,2 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka (Slika 5.35.).

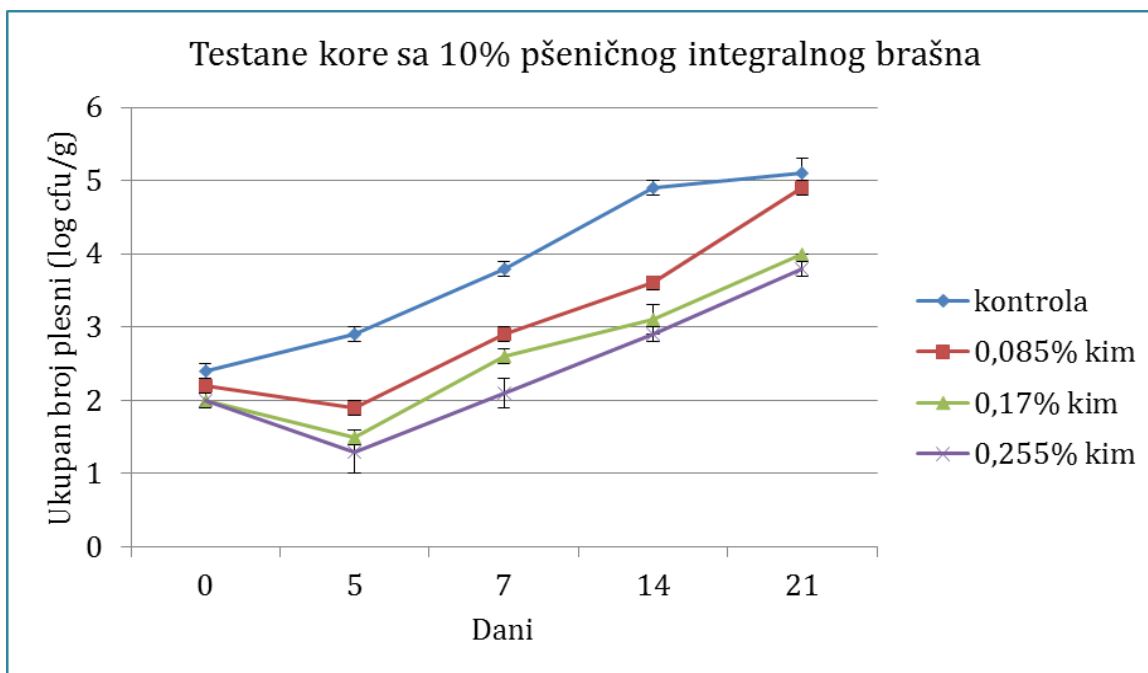
Ukupan broj plesni uzoraka testanih kora sa 10% pšeničnog integralnog brašna sa dodatkom 0,255% mente nultog dana bio je za 0,8 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 1,0 log cfu/g, a nakon 7 dana za 1,1 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka. Posle 14 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je manji za 1 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 21 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,3 log cfu/g u odnosu na kontrolni uzorak. (Slika 5.35.).

Kada je etarsko ulje mente primenjeno u koncentracijama od 0,17% i 0,255% uočeni je najbolji antifungalni efekti na ispitivane testane kore proizvedene sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna tokom 7 dana skladištenja. Primenom etarskog ulja mente u koncentracijama od 0,17% i 0,255% tokom 7 dana skladištenja uočene su najveće razlike ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka nakon 7 dana skladištenja, a bile su 1,0 log cfu/g i 1,1 log cfu/g, respektivno.

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085% ukupan broj plesni nultog dana bio je za 0,2 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 5 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je za 1,0 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 7 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,9 log cfu/g, a nakon 14 dana skladištenja za 1,3 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 21 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,2 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. (Slika 5.36.).

Kod uzoraka testanih kora sa 10% pšeničnog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17% uočen ukupan broj plesni, nultog dana, bio je za 0,4 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 1,4 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Ukupan broj plesni nakon 7 dana skladištenja bio je manji za 1,2 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 14 dana skladištenja

uočen ukupan broj plesni bio je manji za 1,7 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Posle 21 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 1,1 log cfu/g, međutim, zbog pojave kondenzacije u pakovanju testanih kora nakon 21 dana skladištenja, dobijeni rezultati nisu uzeti u razmatranje (Slika 5.36.).



**Slika 5.36.** Uticaj etarskog ulja kima na promenu ukupnog broja plesni testanih kora sa dodatkom pšeničnog integralnog brašna

Kod uzoraka testanih kora sa 10% pšeničnog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255% uočen ukupan broj plesni nultog dana bio je manji za 0,4 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 1,6 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Taj trend se nastavio i nakon 7 i 14 dana skladištenja pri čemu je nakon 7 dana skladištenja ukupan broj plesni uzoraka testanih kora sa dodatkom kima bio manji za 1,7 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 14 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 2,0 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Posle 21 dana skladištenja uočeno je da je ukupan broj plesni bio manji

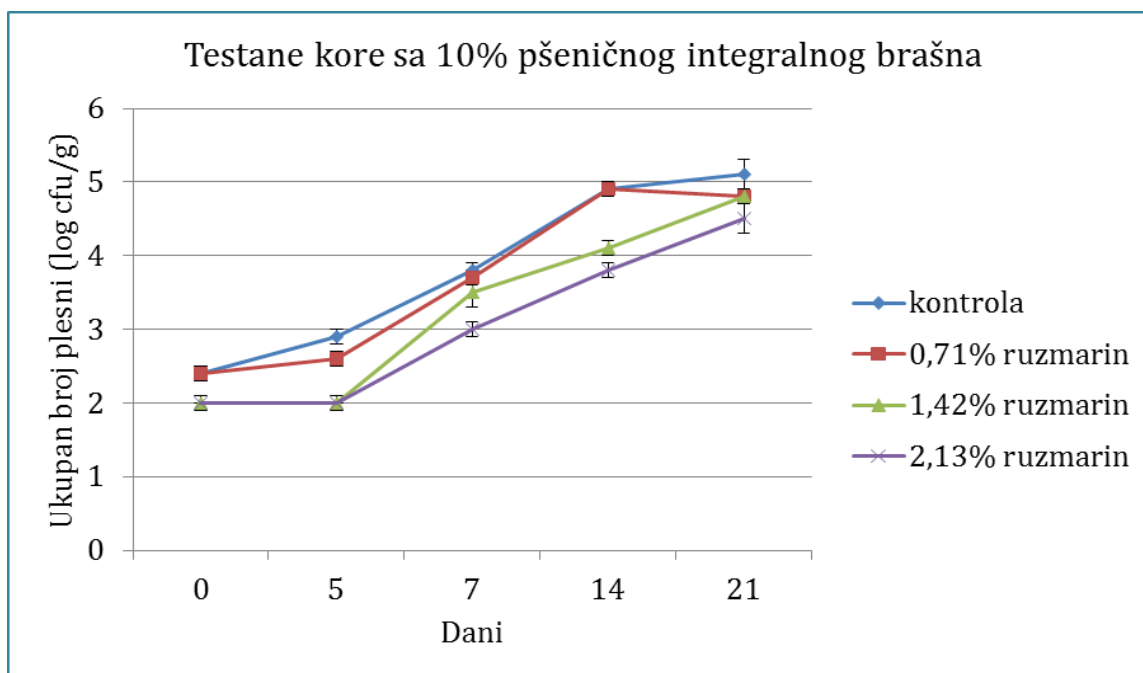
za 1,3 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka, međutim zbog pojave kondenzacije u pakovanju testanih kora nakon 21 dana skladištenja, dobijeni rezultati nisu uzeti u razmatranje (Slika 5.36.).

Kada je etarsko ulje kima primenjeno u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255% pokazalo je najbolje antifungalne efekte na ispitivane testane kore sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna tokom 14 dana skladištenja. Primenom etarskog ulja kima u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255% tokom 14 dana skladištenja uočene su najveće razlike ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka nakon 14 dana skladištenja, a bile su 1,3 log cfu/g, 1,7 log cfu/g i 2,0 log cfu/g, respektivno.

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71% nultog dana uočen je isti ukupan broj plesni kao kod kontrolnog uzorka testanih kora. Nakon 5 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je manji za 0,3 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 7 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,1 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Posle 14 dana skladištenja uočen je isti ukupan broj plesni uzoraka testanih kora sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71% u odnosu na kontrolni uzorak testanih kora. Nakon 21 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 0,3 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj kontrolnog uzorka testanih kora (Slika 5.37.).

Dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42% nultog dana uočen ukupan broj plesni bio je za 0,4 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 5 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je za 0,9 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Posle 7 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 0,3 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 14 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je za 0,7 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka, a nakon 21 dana skladištenja manji za 0,3 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka testanih kora. (Slika 5.37.).

Kod uzoraka testanih kora sa 10% pšeničnog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13% nultog dana uočen je isti rezultat ukupnog broja plesni kao kod uzoraka testanih kora sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%, a odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,4 log cfu/g. Takođe i nakon 5 dana skladištenja uočen je isti rezultat ukupnog broja plesni u odnosu na uzorak testanih kora sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%, a u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka uočen ukupan broj plesni bio je manji za 0,9 log cfu/g. Nakon 7 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 0,8 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 14 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 1,1 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Posle 21 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je za 0,6 log cfu/g manji. (Slika 5.37.).



**Slika 5.37.** Uticaj etarskog ulja ruzmarina na promenu ukupnog broja plesni testanih kora sa dodatkom pšeničnog integralnog brašna

Kada je etarsko ulje ruzmarina primenjeno u koncentraciji od 2,13% pokazalo je najbolji antifungalni efekat na ispitivane testane kore proizvedene sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna tokom 14 dana skladištenja. Primenom etarskog ulja

ruzmarina u koncentraciji od 2,13% tokom 14 dana skladištenja uočena je najveća razlika ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka nakon 14 dana skladištenja i bila je 1,1 log cfu/g.

Rezultati ukupnog broja plesni u uzorcima testanih kora sa dodatkom 10% heljadinog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente, kima i ruzmarina, na dan proizvodnje i tokom perioda skladištenja na temperaturi od 8°C prikazani su u Tabeli 5.16. i Slikama 5.38., 5.39. i 5.40.

**Tabela. 5.16.** Ukupan broj plesni uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% heljadinog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente, kima i ruzmarina (log cfu/g ± standardna devijacija)

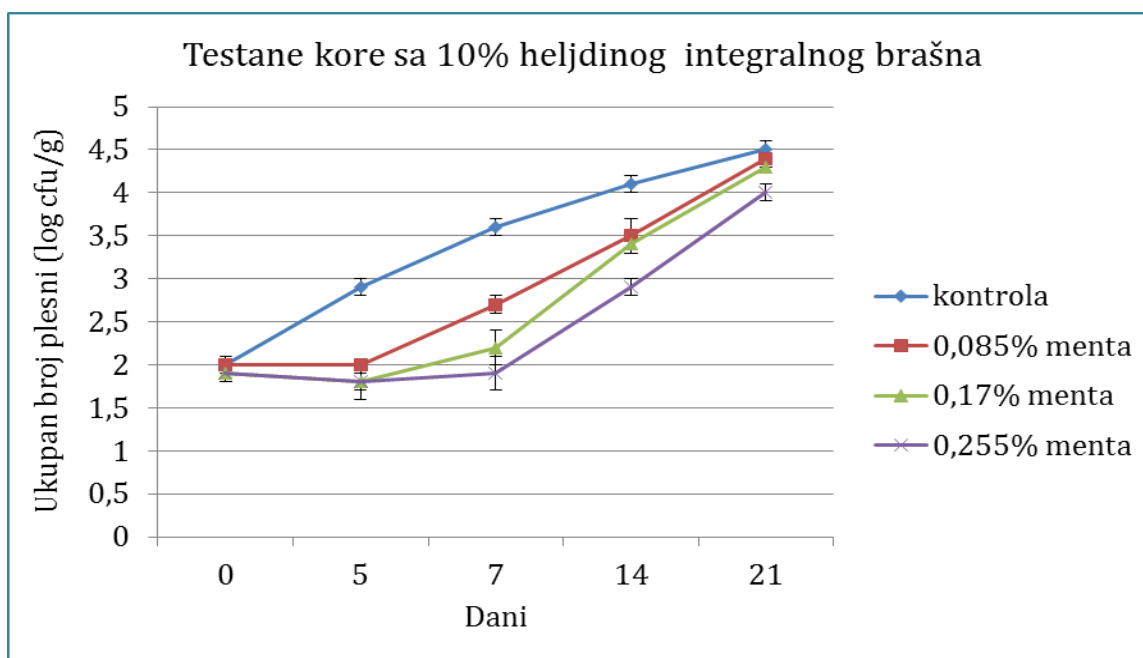
Oznaka uzorka (HIB)	Period ispitivanja (dani)				
	nulti	5	7	14	21
Kontrola	2,0±0 <sup>aB</sup>	2,9±0,1 <sup>bD</sup>	3,6±0,1 <sup>cE</sup>	4,1±0,1 <sup>dD</sup>	4,5±0,1 <sup>eC</sup>
0,085% M	2,0±0,1 <sup>aB</sup>	2,0±0 <sup>aC</sup>	2,7±0,1 <sup>bC</sup>	3,5±0,2 <sup>cC</sup>	4,4±0,1 <sup>dC</sup>
0,17% M	1,9±0,1 <sup>aB</sup>	1,8±0,2 <sup>aA</sup>	2,2±0,2 <sup>bB</sup>	3,4±0,1 <sup>cC</sup>	4,3±0 <sup>dB</sup>
0,255% M	1,9±0,1 <sup>aB</sup>	1,8±0,1 <sup>aA</sup>	1,9±0,2 <sup>aA</sup>	2,9±0,1 <sup>bB</sup>	4,0±0,1 <sup>cA</sup>
0,085% K	1,8±0,2 <sup>aB</sup>	2,0±0 <sup>bC</sup>	2,6±0,1 <sup>cC</sup>	3,4±0,1 <sup>dC</sup>	4,3±0,2 <sup>eB</sup>
0,17% K	1,8±0,1 <sup>aB</sup>	1,8±0,1 <sup>aA</sup>	2,1±0,1 <sup>bB</sup>	3,0±0,1 <sup>cB</sup>	4,1±0,2 <sup>dA</sup>
0,255% K	1,6±0,1 <sup>aA</sup>	1,7±0,1 <sup>aA</sup>	1,9±0 <sup>bA</sup>	2,7±0,1 <sup>cA</sup>	4,0±0,1 <sup>dA</sup>
0,71% R	2,0±0 <sup>aB</sup>	1,9±0,1 <sup>aB</sup>	3,4±0,1 <sup>bE</sup>	4,0±0,1 <sup>cD</sup>	4,3±0,1 <sup>dB</sup>
1,42% R	1,9±0,1 <sup>aB</sup>	1,9±0,1 <sup>aB</sup>	2,9±0,1 <sup>bD</sup>	3,0±0 <sup>bB</sup>	4,0±0,1 <sup>cA</sup>
2,13% R	1,9±0,1 <sup>bB</sup>	1,6±0,1 <sup>aA</sup>	2,3±0,3 <sup>cB</sup>	2,7±0,1 <sup>dA</sup>	4,0±0,1 <sup>eA</sup>

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa. Različita velika slova u eksponentima kolona označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti između uzoraka, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Radi jasnijeg pregleda rezultata, ukupan broj plesni kod uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% heljedinog integralnog brašna prikazan je na slikama 5.38., 5.39., i 5.40.

Ukupan broj plesni testanih kora sa dodatkom 10% heljedinog integralnog brašna bez dodatka etarskog ulja mente, kima i ruzmarina (kontrolni uzorak) kretao se u intervalu od  $2,0 \pm 0$  log cfu/g (nulti dan) do  $4,5 \pm 0,1$  log cfu/g (nakon 21 dana).



**Slika 5.38.** Uticaj etarskog ulja mente na promenu ukupnog broja plesni testanih kora sa dodatkom heljedinog integralnog brašna

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% heljedinog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085% nultog dana uočen ukupan broj plesni bio je isti kao i kod kontrolnog uzorka testanih kora sa dodatkom 10% heljedinog integralnog brašna. Nakon 5 i 7 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je manji za 0,9 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka testanih kora. Nakon 14 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 0,6 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka testanih kora. Nakon 21 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je za 0,1 log cfu/g manji od ukupnog broja plesni kontrolnog uzorka (Slika 5.38.).

Međutim, zbog pojave vidljive plesnivosti dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje (Slika 5.41.).

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% heljdinog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17% nultog dana uočen ukupan broj plesni bio je manji za 0,1 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka testanih kora. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 1,1 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Posle 7 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je za 1,4 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 14 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je manji za 0,7 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka testanih kora, a nakon 21 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,2 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. (Slika 5.38.) Međutim, zbog pojave vidljive plesnivosti dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje (Slika 5.41.).

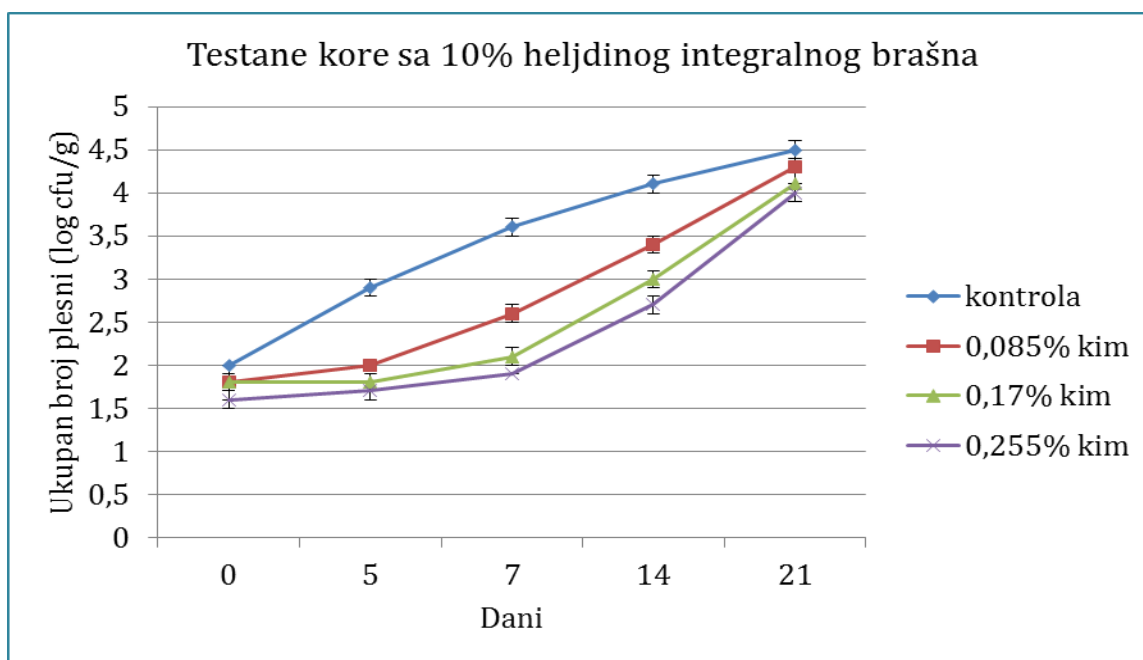
Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255% nultog dana ukupan broj plesni bio je za 0,1 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka testanih kora. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 1,1 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Ukupan broj plesni nakon 7 dana skladištenja bio je manji za 1,7 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka testanih kora. Nakon 14 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je manji za 1,2 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Ukupan broj plesni nakon 21 dana skladištenja bio je manji za 0,5 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka (Slika 5.38.). Međutim, zbog pojave vidljive plesnivosti dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje (Slika 5.38.).

Kada je etarsko ulje mente primenjeno u koncentracijama od 0,17% i 0,255% pokazalo je najbolje antifungalne efekte na ispitivane testane kore od proizvedene sa dodatkom 10% heljdinog integralnog brašna tokom 7 dana skladištenja. Primenom etarskog ulja mente u koncentracijama od 0,17% i 0,255% tokom 7 dana skladištenja uočene su najveće razlike ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj



plesni kontrolnih uzoraka nakon 7 dana skladištenja, a bile su 1,4 log cfu/g i 1,7 log cfu/g, respektivno.

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% heljdinog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085% nultog dana uočen ukupan broj plesni bio je manji za 0,2 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,9 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka testanih kora. Posle 7 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je manji za 1,0 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka, a nakon 14 dana skladištenja bio je manji za 0,7 log cfu/g. Posle 21 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,2 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka testanih kora. (Slika 5.39.). Međutim, zbog pojave vidljive plesnivosti dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje (Slika 5.41.).



**Slika 5.39.** Uticaj etarskog ulja kima na promenu ukupnog broja plesni testanih kora sa dodatkom heljdinog integralnog brašna

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17% nultog dana uočen ukupan broj plesni bio je manji za 0,2 log cfu/g u odnosu na ukupan broj

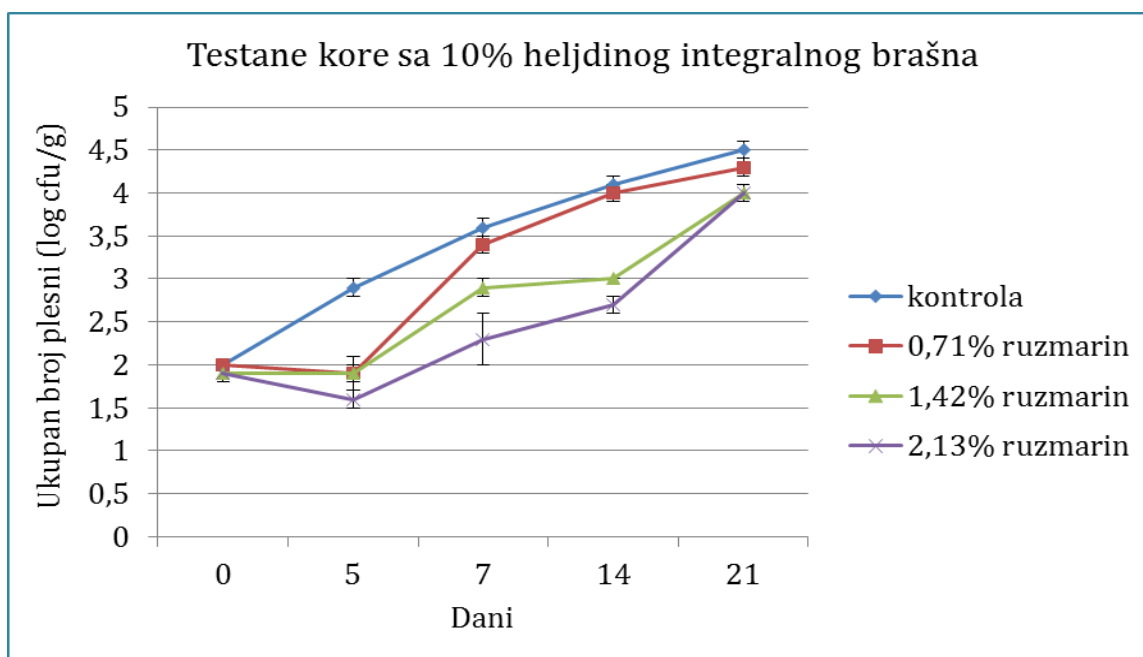
plesni kontrolnog uzorka. Posle 5 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 1,1 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 7 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 1,5 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka testanih kora, a nakon 14 dana skladištenja manji za 1,1 log cfu/g. Posle 21 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,4 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. (Slika 5.39.). Međutim, zbog pojave vidljive plesnivosti dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje (Slika 5.41.).

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% heljdinog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255% nultog dana uočen ukupan broj plesni bio je manji za 0,4 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 1,2 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Posle 7 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je manji za 1,7 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka, a nakon 14 dana skladištenja bio je manji za 1,4 log cfu/g. Nakon 21 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,5 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka testanih kora. (Slika 5.39.). Međutim, zbog pojave vidljive plesnivosti dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje (Slika 5.41.).

Kada je etarsko ulje kima primenjeno u koncentracijama od 0,17% i 0,255% pokazalo je najbolje antifungalne efekte na ispitivane testane kore sa dodatkom 10% heljdinog integralnog brašna tokom 7 dana skladištenja i dobar antifungalni efekat nakon 14 dana skladištenja. Primenom etarskog ulja kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% tokom 7 dana skladištenja uočene su najveće razlike ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka nakon 7 dana skladištenja, a bile su 1,5 log cfu/g i 1,7 log cfu/g, respektivno. Primenom etarskog ulja kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% tokom 14 dana skladištenja uočene su nešto manje razlike ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka nakon 14 dana skladištenja, a bile su 1,1 log cfu/g i 1,4 log cfu/g, respektivno.

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% heljdinog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71% nultog dana uočen je isti rezultat ukupnog broja plesni kao kod kontrolnog uzorka testanih kora. Nakon 5 dana

skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 1,0 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka testanih kora. Posle 7 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je manji za 0,2 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka, a nakon 14 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,1 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 21 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,2 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. (Slika 5.40.). Međutim, nakon 21 dana skladištenja uočen je vidljiv rast plesni, pa shodno tome dobijeni rezultati nisu uzeti u razmatranje (Slika 5.41.).



**Slika 5.40.** Uticaj etarskog ulja ruzmarina na promenu ukupnog broja plesni testanih kora sa dodatkom heljdinog integralnog brašna

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% heljdinog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42% nultog dana i nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,1 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 7 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je manji za 0,7 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka, a nakon 14 dana skladištenja

bio je manji za 1,1 log cfu/g. Posle 21 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,5 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka (Slika 5.40.) Međutim nakon 21 dana skladištenja uočen je vidljiv rast plesni, pa shodno tome dobijeni rezultati nisu uzeti u razmatranje (Slika 5.41.).

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13% nultog dana ukupan broj plesni bio je manji za 0,1 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 5 i 7 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni bio je manji za 1,3 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka. Posle 14 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 1,4 log cfu/g. Nakon 21 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,5 log cfu/g. (Slika 5.40.). Međutim nakon 21 dana skladištenja uočen je vidljiv rast plesni, pa shodno tome dobijeni rezultati nisu uzeti u razmatranje (Slika 5.41.).



**Slika 5.41.** Rast plesni na uzorku testanih kora sa dodatkom heljdinog integralnog brašna nakon 21 dana skladištenja

Kada je etarsko ulje ruzmarina primenjeno u koncentracijama od 1,42% i 2,13% pokazalo je najbolji antifungalni efekat na ispitivane testane kore sa dodatkom 10% heljdinog integralnog brašna tokom 14 dana skladištenja. Primenom etarskog ulja ruzmarina u koncentracijama 1,42% i 2,13% tokom 14 dana skladištenja uočena je najveća

razlika ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka nakon 14 dana skladištenja i bila je 1,1 log cfu/g i 1,4 log cfu/g, respektivno.

Rezultati ukupnog broja plesni u uzorcima testanih kora sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente, kima i ruzmarina, na dan proizvodnje i tokom perioda skladištenja na temperaturi od 8°C prikazani su u Tabeli 5.17. i Slikama 5.42., 5.43. i 5.44.

**Tabela. 5.17.** Ukupan broj plesni uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente, kima i ruzmarina (log cfu/g ± standardna devijacija)

Oznaka uzorka (KIB)	Period ispitivanja (dani)				
	nulti	5	7	14	21
Kontrola	2,0±0,1 <sup>aB</sup>	2,6±0,1 <sup>bD</sup>	3,7±0,2 <sup>cE</sup>	4,3±0,1 <sup>dD</sup>	5,0±0,1 <sup>eCD</sup>
0,085% M	1,2±0,2 <sup>aA</sup>	2,0±0,1 <sup>bC</sup>	2,9±0,1 <sup>cD</sup>	4,1±0,1 <sup>dD</sup>	5,0±0,1 <sup>eCD</sup>
0,17% M	1,1±0,2 <sup>aA</sup>	1,5±0,2 <sup>bA</sup>	2,7±0,1 <sup>cC</sup>	3,9±0,1 <sup>dCD</sup>	4,9±0,1 <sup>eC</sup>
0,255% M	1,0±0 <sup>aA</sup>	1,2±0,2 <sup>bA</sup>	2,0±0,1 <sup>cB</sup>	3,7±0,2 <sup>dC</sup>	4,8±0,1 <sup>rC</sup>
0,085% K	1,5±0,2 <sup>aA</sup>	1,7±0,1 <sup>aAB</sup>	2,8±0,1 <sup>b</sup>	3,9±0,1 <sup>cCD</sup>	4,9±0 <sup>dCC</sup>
0,17% K	1,4±0,1 <sup>aA</sup>	1,8±0,1 <sup>bB</sup>	2,0±0 <sup>cB</sup>	3,4±0,2 <sup>dB</sup>	4,5±0,1 <sup>eB</sup>
0,255% K	1,2±0,3 <sup>aA</sup>	1,3±0,2 <sup>aA</sup>	1,8±0,1 <sup>bA</sup>	3,1±0,2 <sup>cA</sup>	4,2±0,2 <sup>dA</sup>
0,71% R	1,4±0,1 <sup>aA</sup>	1,6±0,1 <sup>bAB</sup>	2,9±0 <sup>cD</sup>	4,2±0,2 <sup>dD</sup>	5,1±0,1 <sup>eD</sup>
1,42% R	1,2±0,2 <sup>aA</sup>	1,5±0,1 <sup>bA</sup>	2,7±0,1 <sup>cC</sup>	3,7±0,2 <sup>dC</sup>	4,9±0 <sup>eC</sup>
2,13% R	1,1±0,2 <sup>aA</sup>	1,4±0,1 <sup>bA</sup>	2,5±0,2 <sup>cC</sup>	3,0±0,1 <sup>dA</sup>	4,6±0,1 <sup>eB</sup>

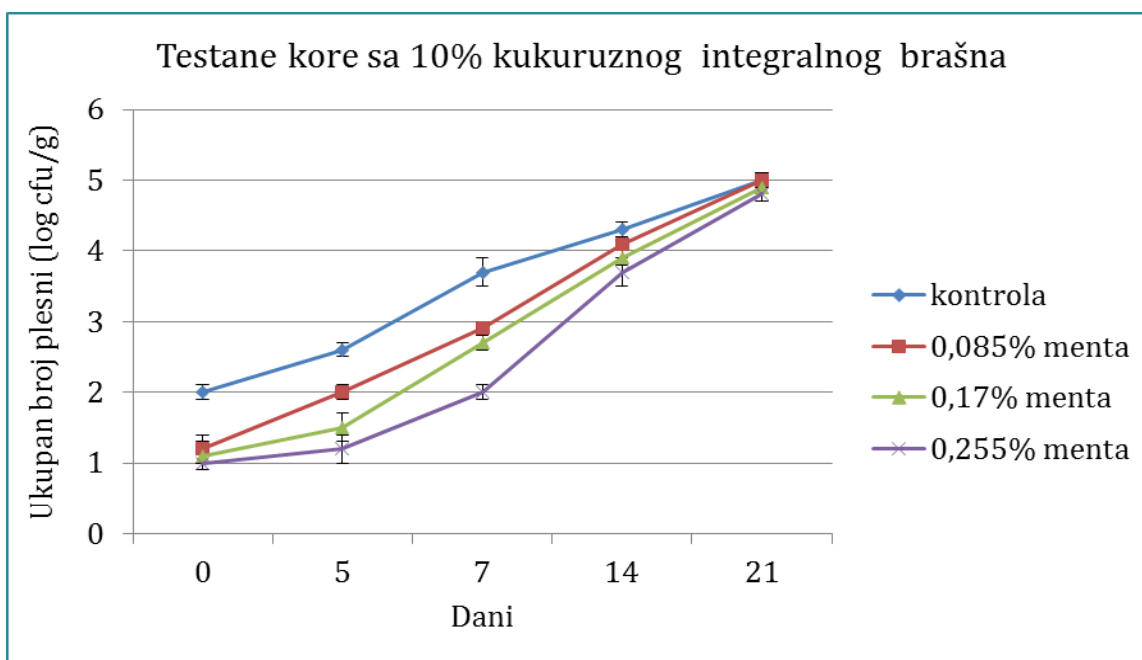
0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa. Različita velika slova u eksponentima kolona označavaju staistički značajne razlike srednjih vrednosti između uzoraka, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Radi jasnijeg pregleda rezultata, ukupan broj plesni kod uzoraka testanih kora sa dodatkom kukuruznog integralnog brašna prikazan je na slikama 5.42., 5.43., i 5.44.

Ukupan broj plesni testanih kora sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna bez dodatka etarskog ulja mente, kima i ruzmarina (kontrolni uzorak) kretao se u intervalu od  $2,0 \pm 0,1$  log cfu/g (nulti dan) do  $5,0 \pm 0,1$  log cfu/g (nakon 21 dana).

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji 0,085%, nultog dana, uočen ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,8 log cfu/g. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni bio je manji za 0,6 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Posle 7 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je za 0,8 log cfu/g manji, a nakon 14 dana skladištenja za 0,2 log cfu/g. Nakon 21 dana skladištenja uočen je isti ukupan broj plesni kao i kod kontrolnog uzorka testanih kora (Slika 5.42.). Međutim, dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje zbog vidljive pojave plesnivosti (Slika 5.45.).



**Slika 5.42.** Uticaj etarskog ulja mente na promenu ukupnog broja plesni testanih kora proizvedenih sa dodatkom kukuruznog integralnog brašna

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%, nultog dana, uočen ukupan broj plesni bio je za 0,9 log cfu/g manji u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 1,1 log cfu/g, a nakon 7 dana skladištenja za 1,0 log cfu/g. Posle 14 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,4 log cfu/g. Nakon 21 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,1 log cfu/g (Slika 5.42.). Međutim, dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje zbog vidljive pojave plesnivosti (Slika 5.45.).

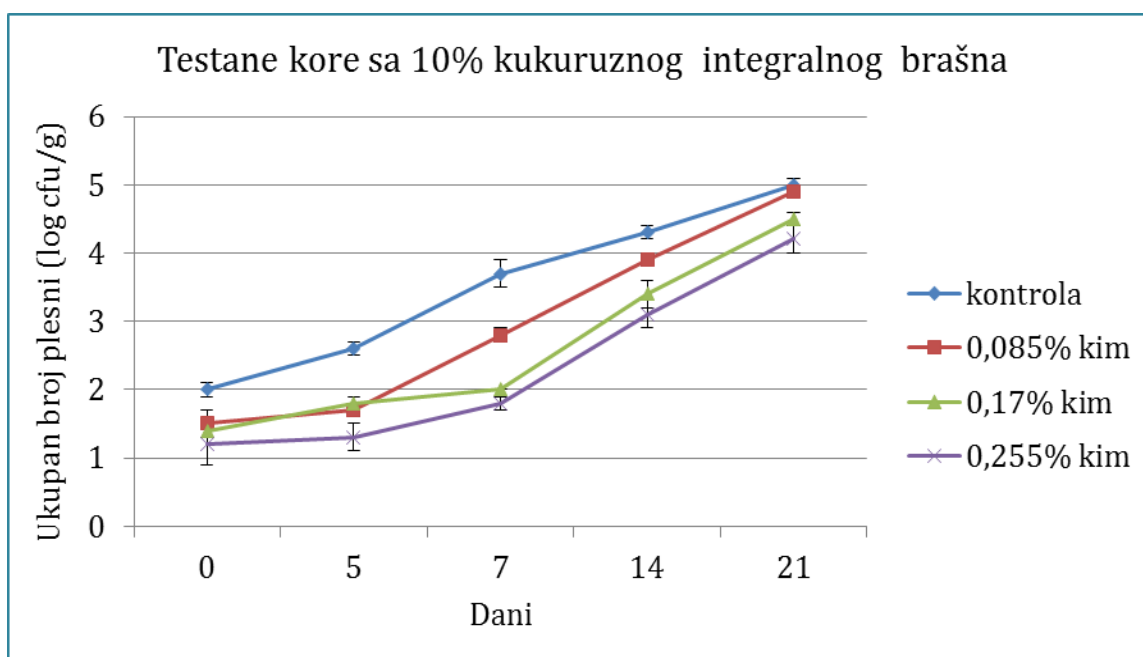
Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom mente u koncentraciji od 0,255% uočen ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka nultog dana bio je manji za 1,0 log cfu/g. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 1,4 log cfu/g, a nakon 7 dana skladištenja manji za 1,7 log cfu/g. Posle 14 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,6 log cfu/g, a nakon 21 dana skladištenja za 0,2 log cfu/g (Slika 5.42.). Međutim, dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje zbog vidljive pojave plesnivosti (Slika 5.45.).

Kada je etarsko ulje mente primenjeno u koncentraciji od 0,255% pokazalo je najbolji antifungalni efekat na ispitivane testane kore proizvedene sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna tokom 7 dana skladištenja. Primenom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255% tokom 7 dana skladištenja uočena je najveća razlika ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka nakon 7 dana skladištenja i bila je 1,7 log cfu/g.

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%, nultog dana, ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka testanih kora bio je manji za 0,5 log cfu/g. Nakon 5 i 7 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,9 log cfu/g. Posle 14 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,4 log cfu/g, a

nakon 21 dana skladištenja za 0,1 log cfu/g (Slika 5.43.). Međutim, dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje zbog vidljive pojave plesnivosti (Slika 5.45.).

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom kima u koncentraciji od 0,17% nultog dana ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,6 log cfu/g. Nakon 5 dana skladištenja uočen ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,8 log cfu/g. Posle 7 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 1,7 log cfu/g, a nakon 14 dana skladištenja za 0,9 log cfu/g. Nakon 21 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,5 log cfu/g (Slika 5.43.). Međutim, dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje zbog vidljive pojave plesnivosti (Slika 5.45.).



**Slika 5.43.** Uticaj etarskog ulja kima na promenu ukupnog broja plesni testanih kora sa dodatkom kukuruznog integralnog brašna

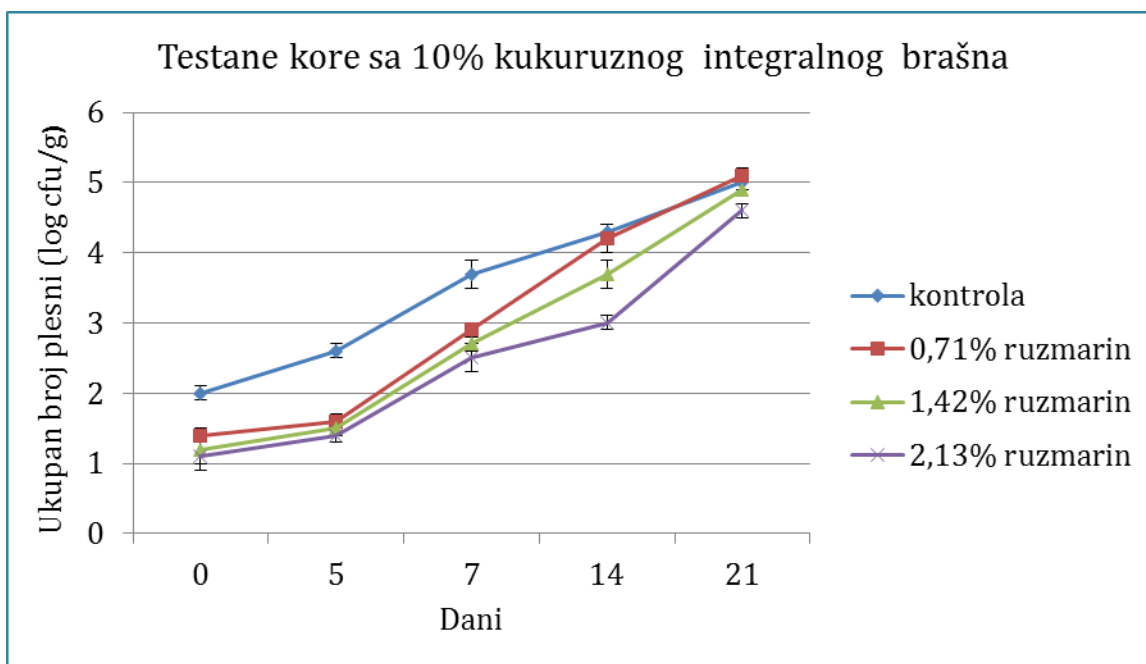
Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%, nultog dana, ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog



uzorka bio je manji za 0,8 log cfu/g. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 1,3 log cfu/g, a nakon 7 dana skladištenja za 1,9 log cfu/g. Posle 14 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 1,2 log cfu/g, a posle 21 dana skladištenja za 0,8 log cfu/g (Slika 5.43.). Međutim, dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje zbog vidljive pojave plesnivosti (Slika 5.45.).

Kada je etarsko ulje kima primenjeno u koncentracijama od 0,17% i 0,255% pokazalo je najbolji antifungalni efekat na ispitivane testane kore proizvedene sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna tokom 7 dana skladištenja i dobar antifungalni efekat nakon 14 dana skladištenja kada je primenjeno u koncentraciji od 0,255%. Primenom etarskog ulja kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% tokom 7 dana skladištenja uočene su najveće razlike ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnih uzoraka nakon 7 dana skladištenja, a bile su 1,7 log cfu/g i 1,9 log cfu/g, respektivno. Primenom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255% tokom 14 dana skladištenja uočena je nešto manja razlika ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka nakon 14 dana skladištenja, a bila je 1,2 log cfu/g.

Kod uzoraka testanih kora proizvedenih sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji 0,71% nultog dana ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,6 log cfu/g. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 1,0 log cfu/g, a nakon 7 dana skladištenja manji za 0,8 log cfu/g. Nakon 14 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,1 log cfu/g. Nakon 21 dana skladištenja uočen je veći ukupan broj za 0,1 log cfu/g u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka (Slika 5.44.). Međutim, dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje zbog vidljive pojave plesnivosti (Slika 5.45.).

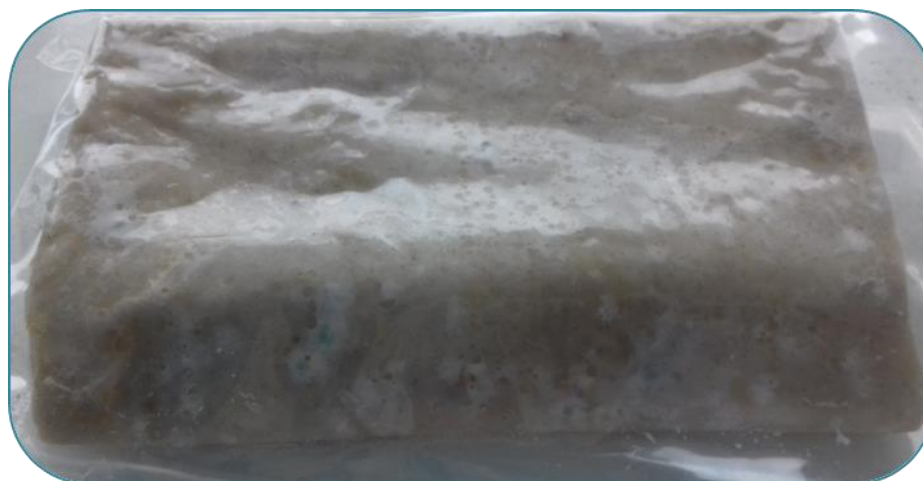


**Slika 5.44.** Uticaj etarskog ulja ruzmarina na promenu ukupnog broja plesni testanih kora sa dodatkom kukuruznog integralnog brašna

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42% nultog dana ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,8 log cfu/g. Nakon 5 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 1,1 log cfu/g, a nakon 7 dana skladištenja za 1,0 log cfu/g. Posle 14 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,6 log cfu/g, a nakon 21 dana skladištenja za 0,1 log cfu/g (Slika 5.44.). Međutim, dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje zbog vidljive pojave plesnivosti (Slika 5.45.).

Kod uzoraka testanih kora sa dodatkom ruzmarina u koncentraciji od 2,13% nultog dana uočen ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,9 log cfu/g. Nakon 5 i 7 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 1,2 log cfu/g, a nakon 14 dana skladištenja za 1,3 log cfu/g. Posle 21 dana skladištenja ukupan broj plesni u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka bio je manji za 0,4 log cfu/g (Slika 5.44.). Međutim,

dobijeni rezultati nakon 21 dana skladištenja nisu uzeti u razmatranje zbog vidljive pojave plesnivosti (Slika 5.45.).



**Slika 5.45.** Rast plesni na uzorku testanih kora proizvedenih sa dodatkom kukuruznog integralnog brašna nakon 21 dana skladištenja

Kada je etarsko ulje ruzmarina primenjeno u koncentraciji od 2,13% pokazalo je najbolji antifungalni efekat na ispitivane testane kore sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna tokom 14 dana skladištenja. Primenom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13% tokom 14 dana skladištenja uočena je najveća razlika ukupnog broja plesni testanih kora u odnosu na ukupan broj plesni kontrolnog uzorka nakon 14 dana skladištenja i bila je 1,3 log.

Dobijeni rezultati ispitivanja antifungalne aktivnosti etarskih ulja u cilju produžetka održivosti testanih kora su u skladu sa literaturnim navodima drugih autora. Prema literaturnim navodima, najčešća je upotreba etarskih ulja u antifungalnoj zaštiti upakovanog hleba od različitih vrsta žita. Takođe, kako navode neki autori, u cilju produžetka održivosti testanih kora ispitivan je uticaj različitih prirodnih agenasa. Sveže testane kore, koje su dostupne u manjim maloprodajnim objektima i supermarketima, prodaju se u obliku tankih listova, obično aerobno pakovanih, na temperaturi frižidera. Prema navodima **Tsiraki i sar. (2018)** sveže testane kore zbog svoje relativno visoke  $a_w$  vrednosti (0,6 - 0,8) i pH vrednosti (6-7) imaju kratak rok trajanja od 4 do 6 dana na

temperaturi 4°C i sklone su kvarenju uglavnom od strane aerobnih mikroorganizama, kao što su plesni i psihrotrofne bakterije. **Tsiraki i sar. (2017)** ispitivali su upotrebu hitozana i natamicina kao prirodnih antimikrobnih agenasa u cilju produžetka roka održivosti testanih kora od pšeničnog brašna. Rezultati njihove studije pokazali su da se upotrebom hitozana i natamicina u kombinaciji sa odgovarajućom ambalažom može produžiti rok upotrebe testanih kora do 10 dana u odnosu na kontrolni čiji je rok upotrebljivosti bio 5 dana. **Nielsen i Rios (2000)** saopštili su da rezultate istraživanja isparljivih komponenti etarskih ulja slačice, cimeta, belog luka, karanfilića, origana i vanile kao alternativu za aktivno pakovanje pšeničnog i ražanog hleba. Najjaču antifungalnu aktivnost pokazalo je etarsko ulje slačice. Cimet, beli luk i karanfilić su ispoljili antifungalnu aktivnost, dok su origano i vanila imali slab ili nikakav antifungalni efekat na hlebu. Pomenuti autori su naveli da se rok trajanja raženog hleba može produžiti do dve nedelje aktivnim pakovanjem sa aktivnom komponentom slačice AITC u koncentracij od 1µl. **Saladino i sar. (2017)** testirali su takođe upotrebu aktivne komponente etarskog ulja slačice (AITC) u produžetku održivosti rezanog hleba i utvrdili da AITC u koncentraciji od 5 µl/l inhibitora rast *A. parasiticus*.

Prema navodima **Krisch i sar. (2013)** testirane su tri vrste hleba (pšenični, pšenično-raženi i raženi hleb). Narezanom upakovanom hlebu dodato je 30 µl etarskog ulja majorana i žalfije. Pripremljeni uzorci hleba testirani su 14 dan na temperaturi od 20°C. Rezultati ispitivanja pokazali su da su oba etarska ulja ispoljila antifungalni efekat prema vrstama *A. niger*, *P. chrysogenum* i *Rhizopus* spp. Najbolji rezultati su postignuti delovanjem majorana na *P. chrysogenum*, pri čemu je kod pšeničnog hleba uočen rast *P. chrysogenum* nakon 9 dana, kod pšenično-ražanog nakon 10 dana, a kod ražanog hleba nakon 14 dana skladištenja nije uočen rast *P. chrysogenum*. **Otoni i sar. (2014)** ispitivali su upotrebu jestivih filmova koji sadrže nanoemulzije etarskog ulja karanfilića i origana na sečenom hlebu. Rezultati su pokazali smanjanje kvasaca i plesni tokom 15 dana skladištenja.

U studiji **Vasileve i sar. (2018)**, u hleb je dodat trop lavande u koncentraciji od 2,5% i 5% pri čemu je došlo do produžetka roka trajanja u poređenju sa kontrolnim hlebom bez dodatka lavande, pri čemu je inhibiran rast plesni i bakterija tokom četiri dana. **Ju i sar. (2019)** i **Gonçalves da Rosa i sar. (2020)** koristili su skrobne mikrokapsule koje

su sadržale komponente etarskih ulja citral i eugenol za inhibiciju rasta *P. roqueforti* i *A. niger* na hlebu. **Gonçalves da Rosa i sar. (2020)** primetili su da dodavanje esencijalnih ulja iz *Origanum vulgare* Linneus i *Thimus vulgaris* ugrađenih u nanokapsule takođe produžava rok trajanja hleba. **Skendi i sar. (2020)** su ispitivali antifungalni efekat etarskog ulja origana, majčine dušice i *Satureja thymbra* u koncentracijama od 12,5; 25 i 50 µl i osušenog origana, majčine dušice i *Satureja thymbra* u koncentracijama od 0,25%, 0,5% i 1% u hlebu. Dodavanje sve tri aromatične biljke rezultiralo je antifungalnim dejstvom prema *A. niger* i *Penicillium* spp. Sve tri aromatične biljke u oba oblika ispoljili su bolji antifungalni efekat prema *Penicillium* spp. nego prema *A. niger*. *Satureja thymbra* je ispoljila naslabiji antifungalni efekat u odnosu na origano i majčinu dušicu.

### 5.5.2. Mikopopulacija testanih kora

Mikopopulaciju testanih kora od pšenišnog brašna tip 500 na dan proizvodnje činila su 3 roda i 4 vrste. Rod *Penicillium* bio je zastupljen sa dve vrste: *P. aurantiogriseum* i *P. expansum*, dok su rodovi *Aspergillus* i *Cladosporium* bili zastupljeni sa po jednom vrstom, *A. candidus* i *C. cladosporioides* (Tabela 5.18.).

**Tabela 5.18.** Mikopopulacija uzoraka testanih kora od pšenišnog brašna Tip 500 na dan proizvodnje (nulti dan)

Vrsta plesni	Uzorak testanih kora od pšeničnog brašna tip 500									
	Kontrola	0,085% M	0,17% M	0,255% M	0,085% K	0,17% K	0,255% K	0,71% R	1,42% R	2,13% R
<i>A. candidus</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. cladosporioides</i>	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>P. aurantiogriseum</i>	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>P. expansum</i>	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+

Legenda: „-“ nije detektovano prisustvo plesni; 0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Iz kontrolnog uzorka testanih kora kao i iz uzorka sa 0,085% etarskog ulja mente izolovane su četiri vrste plesni: *P. aurantiogriseum*, *P. expansum*, *A. candidus* i *C. cladosporioides*. Iz uzoraka sa 0,71% etarskog ulja ruzmarina izolovane su tri vrste: *P. aurantiogriseum*, *P. expansum* i *C. cladosporioides*, dok su iz uzoraka sa 1,42% i 2,13% ruzmarina izolovane vrste *P. aurantiogriseum* i *P. expansum*. Kod uzoraka sa 0,17% i 0,2555% mente kao i uzoraka sa 0,085%, 0,17% i 0,255% kima nije uočen rast plesni (Tabela 5.18.).

Nakon 5 i 7 dana skladištenja testanih kora pri temperaturi od 8°C nije došlo do promena u sastavu i zastupljenosti izolovanih vrsta plesni.

Nakon 14 dana skladištenja nije došlo do promene u sastavu mikološke populacije. Od izolovanih *Penicillium* vrsta, dominantna je bila *P. aurantiogriseum* sa učestalošću pojavljivanja 100%. Zastupljenost *P. expansum* iznosila je 70%, *C. cladosporioides* 30%, a *A. candidus* 20% (Tabela 5.19.).

**Tabela 5.19.** Mikopopulacija uzoraka testanih kora od pšeničnog brašna Tip 500 nakon 14 dana skladištenja

Vrsta plesni	Uzorak testanih kora od pšeničnog brašna tip 500									
	Kontrola	0,085% M	0,17% M	0,255% M	0,085% K	0,17% K	0,255% K	0,71% R	1,42% R	2,13% R
<i>A. candidus</i>	+	+								
<i>C. cladosporioides</i>	+	+						+		
<i>P. aurantiogriseum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. expansum</i>	+	+	+	+	+			+	+	

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Prisustvo svih izolovanih vrsta plesni uočeno je kod kontrolnog uzorka i uzoraka sa 0,085% etarskog ulja mente. Kod uzoraka sa 0,71% etarskog ulja ruzmarina uočeno je

prisustvo tri vrste plesni: *P. aurantiogriseum*, *P. expansum* i *C. cladosporioides*. Dve vrste *P. aurantiogriseum* i *P. expansum* izolovane su kod uzoraka sa 0,17% mente, 0,255% mente, 0,085% kima i 1,42% ruzmarina. Kod uzoraka sa 0,17% kima, 0,255% kima i 2,13% ruzmarina izolovana je vrsta *P. aurantiogriseum* (Tabela 5.19.).

Nakon 21 dana skladištenja nije došlo do promena u sastavu mikološke populacije. Najdominantnije vrste bile su *P. aurantiogriseum* i *P. expansum* sa učestalošću pojavljivanja od 100%. Zastupljenost *C. cladosporioides* bila je 40%, a *A. candidus* 20% (Tabela 5.20.).

**Tabela 5.20.** Mikopopulacija uzoraka testanih kora od pšenišnog brašna Tip 500 nakon 21 dana skladištenja

Vrsta plesni	Uzorak testanih kora od pšeničnog brašna tip 500									
	Kontrola	0,085% M	0,17% M	0,255% M	0,085% K	0,17% K	0,255% K	0,71% R	1,42% R	2,13% R
<i>A. candidus</i>	+	+								
<i>C. cladosporioides</i>	+	+						+	+	
<i>P. aurantiogriseum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. expansum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Kod kontrolnog uzorka i uzoraka sa 0,085% etarskog ulja mente izolovane su 4 vrste plesni: *A. candidus*, *P. aurantiogriseum*, *P. expansum* i *C. cladosporioides*. Iz uzoraka sa 0,17% i 1,42% etarskog ulja ruzmarina izolovane su 3 vrste plesni: *P. aurantiogriseum*, *P. expansum* i *C. cladosporioides*. Kod uzorka sa 0,17% mente, 0,255% mente, 0,085%, 0,17% i 0,255% kima kao i kod uzorka sa 2,13% ruzmarina izolovane su 2 vrste: *P. aurantiogriseum* i *P. expansum* (Tabela 5.20.).

Kada su primenjena etarska ulja kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% i ruzmarina u koncentraciji od 2,13% nakon 14 dana skladištenja, iz uzorka testanih kora od

belog pšeničnog brašna Tip 500 bila je izolovana samo jedna vrsta plesni i to *P. aurantiogriseum*. U slučaju primene etarskih ulja mente u koncentracijama od 0,17% i 0,255%, kima u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255% i ruzmarina u koncentracijama od 0,71%, 1,42% i 2,13% nakon 21 dana skladištenja, bile su izolovane dve vrste plesni *P. aurantiogriseum* i *P. expansum*.

Mikopopulacija testanih kora sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna svrstana je u 2 roda i 3 vrste. Rod *Penicillium* bio je zastupljen sa dve vrste: *P. aurantiogriseum* i *P. expansum*, dok je rod *Cladosporium* bio zastupljen sa vrstom *C. cladosporioides* (Tabela 5.21.).

**Tabela 5.21.** Mikopopulacija uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna na dan proizvodnje (nulti dan)

Vrsta plesni	Uzorak testanih kora sa 10% pšeničnog integralnog brašna									
	Kontrola	0,085% M	0,17% M	0,255% M	0,085% K	0,17% K	0,255% K	0,71% R	1,42% R	2,13% R
<i>C. cladosporioides</i>	+	+								
<i>P. aurantiogriseum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>P. expansum</i>	+	+						+	+	+

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Iz kontrolnog uzorka testanih kora i uzoraka sa 0,085% etarskog ulja mente izolovane su tri vrste plesni: *P. aurantiogriseum*, *P. expansum*, i *C. cladosporioides*. Kod uzoraka sa 0,71% etarskog ulja ruzmarina uočeno je prisustvo dve vrste plesni, *P. aurantiogriseum* i *P. expansum*. Iz uzoraka sa 0,17% i 0,255% etarskog ulja mente, 0,085%, 0,17% i 0,255% etarskog ulja kima izolovana je jedna vrsta, *P. aurantiogriseum*, a kod uzoraka sa 1,42% i 2,13% etarskog ulja ruzmarina takođe jedna vrsta, *P. expansum* (Tabela 5.21.).



Nakon 5 i 7 dana skladištenja testanih kora pri temperaturi od 8°C nije došlo do promena u sastavu i zastupljenosti izolovanih vrsta plesni.

Nakon 14 dana skladištenja nije došlo do promene u sastavu mikološke populacije. Od izolovanih *Penicillium* vrsta, najdominantnija bila je *P. aurantiogriseum* sa učestalošću pojavljivanja 100%. Zastupljenost *P. expansum* iznosila je 70%, a *C. cladosporioides* 10% (Tabela 5.22.).

**Tabela 5.22.** Mikopopulacija uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna nakon 14 dana skladištenja

Vrsta plesni	Uzorak testanih kora sa 10% pšeničnog integralnog brašna									
	Kontrola	0,085% M	0,17% M	0,255% M	0,085% K	0,17% K	0,255% K	0,71% R	1,42% R	2,13% R
<i>C. cladosporioides</i>	+									
<i>P. aurantiogriseum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. expansum</i>	+	+	+	+				+	+	+

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Kod kontrolnog uzorka uočeno je prisustvo sve tri izolovane vrste. Dve vrste plesni, *P. aurantiogriseum* i *P. expansum* izolovane su kod uzoraka sa 0,085%, 0,17% i 0,255% etarskog ulja mente i sa 0,71%, 1,425 i 2,13% etarskog ulja ruzmarina. Kod uzoraka sa 0,085%, 0,17% i 0,255% etarskog ulja kima izolovana je jedna vrsta, *P. aurantiogriseum* (Tabela 5.22.).

Nakon 21 dana skladištenja nije došlo do promena u sastavu mikološke populacije. Dominantne vrste bile su *P. aurantiogriseum* i *P. expansum* sa učestalošću pojavljivanja od 100%, dok je zastupljenost vrste *C. cladosporioides* bila 10% (Tabela 5.23.).

**Tabela 5.23.** Mikopopulacija uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna nakon 21 dana skladištenja

Vrsta plesni	Uzorak testanih kora sa 10% pšeničnog integralnog brašna									
	Kontrola	0,085% M	0,17% M	0,255% M	0,085% K	0,17% K	0,255% K	0,71% R	1,42% R	2,13% R
<i>C. cladosporioides</i>	+									
<i>P. aurantiogriseum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. expansum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Kod kontrolnog uzorka je uočeno prisustvo sve tri izolovane vrste. Kod uzoraka sa dodatkom etarskog ulja mente, kima i ruzmarina uočeno je prisustvo dve vrste plesni, *P. aurantiogriseum* i *P. expansum* (Tabela 5.23.).

Kada je primenjeno etarsko ulje kima u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255% nakon 14 dana skladištenja, iz uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna izolovana je samo jedna vrsta plesni i to *P. aurantiogriseum*. U slučaju primene etarskih ulja mente u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255%, kima u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255% i ruzmarina u koncentracijama od 0,71%, 1,42% i 2,13% nakon 21 dana skladištenja, bile su izolovane dve vrste plesni *P. aurantiogriseum* i *P. expansum*.

Mikopopulacija testanih kora sa 10% heljedinog integralnog brašna svrstana je u 4 roda i 5 vrsta. Rod *Penicillium* bio je zastupljen sa dve vrste *P. aurantiogriseum* i *P. expansum*. Rod *Aspergillus* bio je zastupljen sa jednom vrstom *A. candidus*, rod *Cladosporium* sa jednom vrstom *C. cladosporioides*, kao i rod *Rhizopus* sa vrstom *R. stolonifer* (Tabela 5.24.).

**Tabela 5.24.** Mikopopulacija uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% heljedinog integralnog brašna na dan proizvodnje (nulti dan)

Vrsta plesni	Uzorak testanih kora sa 10% heljedinog integralnog brašna									
	Kontrola	0,085% M	0,17% M	0,255% M	0,085% K	0,17% K	0,255% K	0,71% R	1,42% R	2,13% R
<i>A. candidus</i>	+	+								
<i>C. cladosporioides</i>	+	+								
<i>P. aurantiogriseum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. expansum</i>	+	+	+							
<i>R. stolonifer</i>	+									

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Kod kontrolnog uzorka testanih kora izolovano je pet vrsta plesni: *A. candidus*, *P. aurantiogriseum*, *P. expansum*, *C. cladosporioides* i *R. stolonifer*. Kod uzorka sa 0,085% etarskog ulja mente uočeno je prisustvo 4 vrste: *A. candidus*, *P. aurantiogriseum*, *P. expansum* i *C. cladosporioides*. Iz uzoraka sa 0,17% etarskog ulja mente izolovane su dve vrste *P. aurantiogriseum* i *P. expansum*. Kod uzoraka sa 0,255% etarskog ulja mente, 0,085%, 0,17% i 0,255% etarskog ulja kima i uzoraka sa 0,71%, 1,42% i 2,13% etarskog ulja ruzmarina izolovana je jedana vrsta *P. aurantiogriseum* (Tabela 5.24.).

Nakon 5 i 7 dana skladištenja testanih kora pri temperaturi od 8°C nije došlo do promena u sastavu i zastupljenosti izolovanih vrsta plesni.

Nakon 14 dana skladištenja nije došlo do promene u sastavu mikološke populacije. Od izolovanih *Penicillium* vrsta, najdominantnija bila je *P. aurantiogriseum* sa učestalošću pojavljivanja 100%. Vrsta *P. expansum* bila je zastupljena sa učestalošću pojavljivanja od 80%, *R. stolonifer* sa 60%, *C. cladosporioides* sa 20% i *A. candidus* sa 10% (Tabela 5.25.).

**Tabela 5.25.** Mikopopulacija uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% heljdinog integralnog brašna nakon 14 dana skladištenja

Vrsta plesni	Uzorak testanih kora sa 10% heljdinog integralnog brašna									
	Kontrola	0,085% M	0,17% M	0,255% M	0,085% K	0,17% K	0,255% K	0,71% R	1,42% R	2,13% R
<i>A. candidus</i>	+									
<i>C. cladosporioides</i>	+	+								
<i>P. aurantiogriseum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. expansum</i>	+	+	+	+	+			+	+	+
<i>R. stolonifer</i>	+	+	+					+	+	+

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Kod kontrolnog uzorka testanih kora izolovano je pet vrsta plesni: *A. candidus*, *P. aurantiogriseum*, *P. expansum*, *C. cladosporioides* i *R. stolonifer*. Kod uzorka sa 0,085% etarskog ulja mente uočeno je prisustvo 4 vrste: *P. aurantiogriseum*, *P. expansum*, *C. cladosporioides* i *R. stolonifer*. Tri vrste plesni, *P. aurantiogriseum*, *P. expansum* i *R. stolonifer*, izolovane su kod uzorka sa 0,17% etarskog ulja mente, 0,71%, 1,42% i 2,13% etarskog ulja ruzmarina. Kod uzoraka sa 0,255% mente i 0,085% kima izolovane su dve vrste plesni, *P. aurantiogriseum* i *P. expansum*. Vrsta *P. aurantiogriseum* izolovana je kod uzoraka sa 0,17% i 0,255% etarskog ulja kima (Tabela 5.25.).

Nakon 21 dana skladištenja nije došlo do promena u sastavu mikološke populacije. Dominantne vrste bile su *P. aurantiogriseum* i *P. expansum* sa učestalošću pojavljivanja od 100%, *R. stolonifer* sa 60%, *C. cladosporioides* sa 20% i *A. candidus* sa 10% (Tabela 5.26.).

**Tabela 5.26.** Mikopopulacija uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% heljdinog integralnog brašna nakon 21 dana skladištenja

Vrsta plesni	Uzorak testanih kora sa 10% heljdinog integralnog brašna									
	Kontrola	0,085% M	0,17% M	0,255% M	0,085% K	0,17% K	0,255% K	0,71% R	1,42% R	2,13% R
<i>A. candidus</i>	+									
<i>C. cladosporioides</i>	+	+								
<i>P. aurantiogriseum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. expansum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>R. stolonifer</i>	+	+	+					+	+	+

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Kod kontrolnog uzorka testanih kora izolovano je pet vrsta plesni: *A. candidus*, *P. aurantiogriseum*, *P. expansum*, *C. cladosporioides* i *R. stolonifer*. Kod uzorka sa 0,085% etarskog ulja mente uočeno je prisustvo 4 vrste: *P. aurantiogriseum*, *P. expansum*, *C. cladosporioides* i *R. stolonifer*. *P. aurantiogriseum*, *P. expansum* i *R. stolonifer*, izolovane su kod uzorka sa 0,17% etarskog ulja mente, 0,71%, 1,42% i 2,13% etarskog ulja ruzmarina. Kod uzoraka sa 0,255% mente i 0,085%, 0,17% i 0,255% kima izolovane su dve vrste *P. aurantiogriseum* i *P. expansum* (Tabela 5.26.).

Kada je primenjeno etarsko ulje kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% nakon 14 dana skladištenja, iz uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% heljdinog integralnog brašna izolovana je samo jedna vrsta plesni i to *P. aurantiogriseum*. U slučaju primene etarskih ulja mente u koncentraciji od 0,255% i kima u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255% nakon 21 dana skladištenja, bile su izolovane dve vrste plesni *P. aurantiogriseum* i *P. expansum*.

Mikopopulacija testanih kora sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna svrstana je u 5 rodova i 7 vrsta. Rod *Penicillium* bio je zastupljen sa tri vrste, dok su rodovi *Aspergillus*, *Cladosporium* i *Fusarium* bili zastupljeni sa po jednom vrstom (Tabela 5.27.).

**Tabela 5.27.** Mikopopulacija uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna na dan proizvodnje (nulti dan)

Vrsta plesni	Uzorak testanih kora sa 10% kukuruznog integralnog brašna									
	Kontrola	0,085% M	0,17% M	0,255% M	0,085% K	0,17% K	0,255% K	0,71% R	1,42% R	2,13% R
<i>A. flavus</i>	+	+								
<i>C. cladosporioides</i>	+									
<i>F. proliferatum</i>	+									
<i>P. aurantiogriseum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. commune</i>	+	+	+							
<i>P. oxalicum</i>	+	+	+					+	+	
<i>R. stolonifer</i>	+									

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Kod kontrolnog uzorka testanih kora nultog dana izolovano je 7 vrsta plesni: *A. flavus*, *P. aurantiogriseum*, *P. commune*, *P. oxalicum*, *C. cladosporioides*, *F. proliferatum* i *R. stolonifer*. Kod uzorka sa 0,085% etarskog ulja mente izolovano je 4 vrste plesni: *A. flavus*, *P. aurantiogriseum*, *P. commune* i *P. oxalicum*. Tri vrste plesni, *P. aurantiogriseum*, *P. commune* i *P. oxalicum*, uočene su kod uzorka sa 0,17% mente. Kod uzorka sa 0,71% i 1,42% ruzmarina izolovane su dve vrste *P. aurantiogriseum* i *P. oxalicum*. Prisustvo jedne vrste plesni *P. aurantiogriseum* uočeno je kod uzorka sa 0,255% mente, 0,085%, 0,175, 0,255% kima i 2,13% ruzmarina (Tabela 5.27.).

Nakon 5 i 7 dana skladištenja testanih kora pri temperaturi od 8°C nije došlo do promena u sastavu i zastupljenosti izolovanih vrsta plesni.

Nakon 14 dana skladištenja nije došlo do promene u sastavu mikološke populacije. Od izolovanih *Penicillium* vrsta najdominantnija bila je *P. aurantiogriseum* sa učestalošću pojavljivanja od 100%. Vrsta *P. oxalicum* bila je zastupljena sa učestalošću pojavljivanja od 70%. Sa učestalošću pojavljivanja od 60% bila je vrsta *R. stolonifer*, sa 50% *P. commune*. Vrsta *A. flavus* bila je zastupljena sa 20%, dok su sa učestalošću pojavljivanja od 10% bile vrste *C. cladosporioides* i *F. proliferatum* (Tabela 5.28.).

**Tabela 5.28.** Mikopopulacija uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna nakon 14 dana skladištenja

Vrsta plesni	Uzorak testanih kora sa 10% kukuruznog integralnog brašna									
	Kontrola	0,085% M	0,17% M	0,255% M	0,085% K	0,17% K	0,255% K	0,71% R	1,42% R	2,13% R
<i>A. flavus</i>	+	+								
<i>C. cladosporioides</i>	+									
<i>F. proliferatum</i>	+									
<i>P. aurantiogriseum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. commune</i>	+	+	+					+	+	
<i>P. oxalicum</i>	+	+	+	+	+			+	+	
<i>R. stolonifer</i>	+	+	+	+	+			+		

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Kod kontrolnog uzorka testanih kora izolovano je 7 vrsta plesni: *A. flavus*, *P. aurantiogriseum*, *P. commune*, *P. oxalicum*, *C. cladosporioides*, *F. proliferatum* i *R. stolonifer*. Kod uzorka sa 0,085% mente uočeno je prisustvo 5 vrsta plesni: *A. flavus*, *P. aurantiogriseum*, *P. commune*, *P. oxalicum* i *R. stolonifer*. Četiri vrste plesni, *P.*

*aurantiogriseum*, *P. commune*, *P. oxalicum* i *R. Stolonifer* izolovane su kod uzoraka sa 0,17% mente i 0,71% ruzmarina. Tri vrste plesni, *P. aurantiogriseum*, *P. oxalicum* i *R. stolonifer*, izolovane su kod uzoraka sa 0,255% mente i 0,085% kima, a vrste *P. aurantiogriseum*, *P. commune* i *P. oxalicum* kod uzorka sa 1,42% ruzmarina. Uzorci sa 0,17%, 0,255% kima i 2,13% ruzmarina bili su sa jednom izolovanom vrstom *P. aurantiogriseum* (Tabela 5.28.).

Nakon 21 dana skladištenja nije došlo do promena u sastavu mikološke populacije. Najdominantnije vrste bile su *P. aurantiogriseum*, *P. expansum* i *R. stolonifer* sa učestalošću pojavljivanja od 100%. Vrsta *P. commune* bila je zastupljena sa učestalošću pojavljivanja od 60%, sa 20% *A. flavus* i sa 10% *C. cladosporioides* i *F. proliferatum* (Tabela 5.29.).

**Tabela 5.29.** Mikopopulacija uzoraka testanih kora sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna nakon 21 dana skladištenja

Vrsta plesni	Uzorak testanih kora sa 10% kukuruznog integralnog brašna									
	Kontrola	0,085% M	0,17% M	0,255% M	0,085% K	0,17% K	0,255% K	0,71% R	1,42% R	2,13% R
<i>A. flavus</i>	+	+								
<i>C. cladosporioides</i>	+									
<i>F. proliferatum</i>	+									
<i>P. aurantiogriseum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. commune</i>	+	+	+					+	+	+
<i>P. oxalicum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>R. stolonifer</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

0,085% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,085%; 0,17% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,17%; 0,255% M-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255%; 0,085% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,085%; 0,17% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,17%; 0,255% K-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja kima u koncentraciji od 0,255%; 0,71% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 0,71%; 1,42% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 1,42%; 2,13% R-Testane kore sa dodatkom etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%

Kod kontrolnog uzorka testanih kora izolovano je 7 vrsta plesni: *A. flavus*, *P. aurantiogriseum*, *P. commune*, *P. oxalicum*, *C. cladosporioides*, *F. proliferatum* i *R. stolonifer*. Kod uzorka sa 0,085% mente uočeno je prisustvo 5 vrsta plesni: *A. flavus*, *P. aurantiogriseum*, *P. commune*, *P. oxalicum* i *R. stolonifer*. Četiri vrste plesni, *P.*



*aurantiogriseum*, *P. commune*, *P. oxalicum* i *R. stolonifer* izolovane su kod uzoraka sa 0,17% mente i 0,71%, 1,42% i 2,13% ruzmarina. Kod uzoraka sa 0,255% etarskog ulja mente, 0,085%, 0,17% i 0,255% etarskog ulja kima izolovane su tri vrste plesni *P. aurantiogriseum*, *P. oxalicum* i *R. stolonifer* (Tabela 5.29.).

Kada su primenjena etarska ulja kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% i ruzmarina u koncentraciji od 2,13% nakon 14 dana skladištenja, iz uzorka testanih kora sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna bila je izolovana samo jedna vrsta plesni i to *P. aurantiogriseum*. U slučaju primene etarskih ulja mente u koncentraciji 0,255% i kima u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255% nakon 21 dana skladištenja, bile su izolovane tri vrste plesni *P. aurantiogriseum*, *P. expansum* i *R. stolonifer*.

Primenjena etarska ulja mente, kima i ruzmarina u odabranim koncentracijama u antifungalnoj zaštiti testanih kora inhibirala su rast određenih vrsta plesni testanih kora, tokom perioda skladištenja, u odnosu na kontrolne uzorke testanih kora. Mikopopulacija testanih kora bez dodatka etarskih ulja prikazana je u Poglavlju 5.1.2.1.

### 5.5.3. Distribucija plesni u kontrolnim uzorcima testanih kora

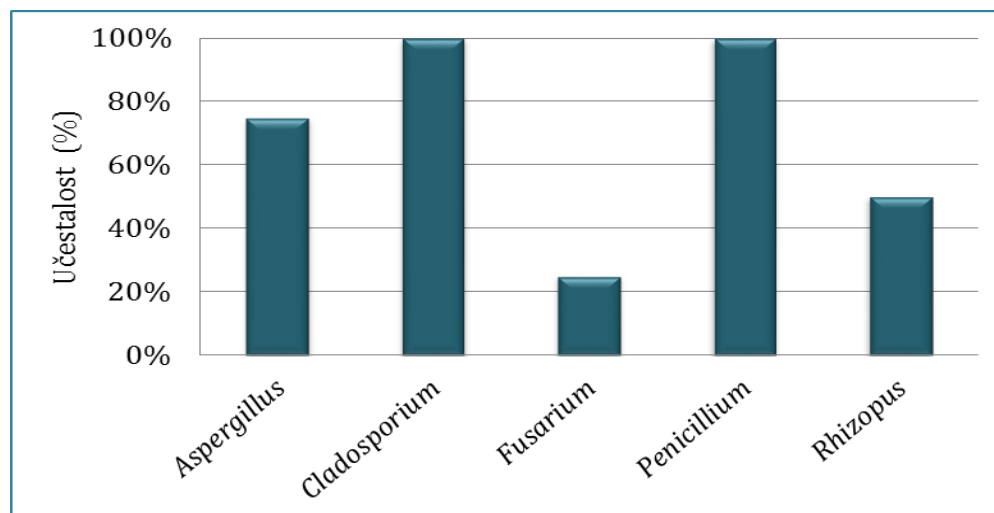
Mikopopulacija kontrolnih uzoraka testanih kora od pšenišnog brašna tip 500 i testanih kora sa dodatkom pšeničnog integralnog, heljadinog integralnog i kukuruznog integralnog brašna bez dodatka etarskih ulja nakon 21 dana skladištenja svrstana je u 5 rodova i 9 vrsta (Tabela 5.30.).

**Tabela 5.30.** Vrste plesni izolovane iz kontrolnih uzoraka testanih kora

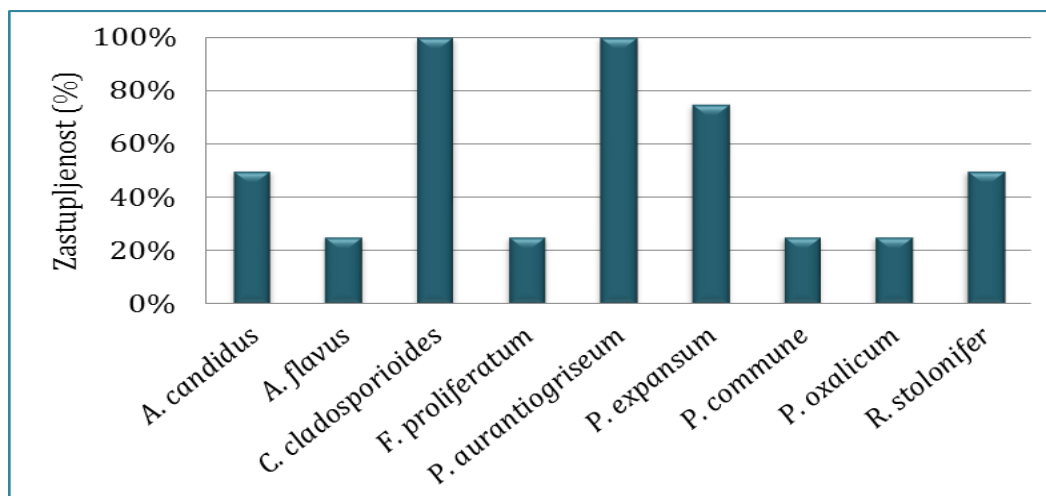
Vrste plesni	Uzorak testanih kora			
	PBB	PIB	HIB	KIB
<i>A. candidus</i>	+		+	
<i>A. flavus</i>				+
<i>C. cladosporioides</i>	+	+	+	+
<i>F. proliferatum</i>				+
<i>P. aurantiogriseum</i>	+	+	+	+
<i>P. expansum</i>	+	+	+	
<i>P. commune</i>				+
<i>P. oxalicum</i>				+
<i>R. stolonifer</i>			+	+

Legenda: + - prisustvo plesni u uzorcima testanih kora; PBB-testane kore od pšeničnog brašna Tip 500; PIB-testane kore sa 10% pšeničnog integralnog brašna; HIB-testane kore sa 10% heljdinog integralnog brašna; KIB-testane kore sa 10% kukuruznog integralnog brašna

Od 5 rodova najčešće izolovanih iz kontrolnih uzoraka testanih kora (*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* i *Rhizopus*) rodovi *Cladosporium* i *Penicillium* detektovani su u svim uzorcima sa učestalošću od 100%. Učestalost rodova *Aspergillus* bila je 75%, roda *Rhizopus* 50%, a roda *Fusarium* 25% (Slika 5.46.).

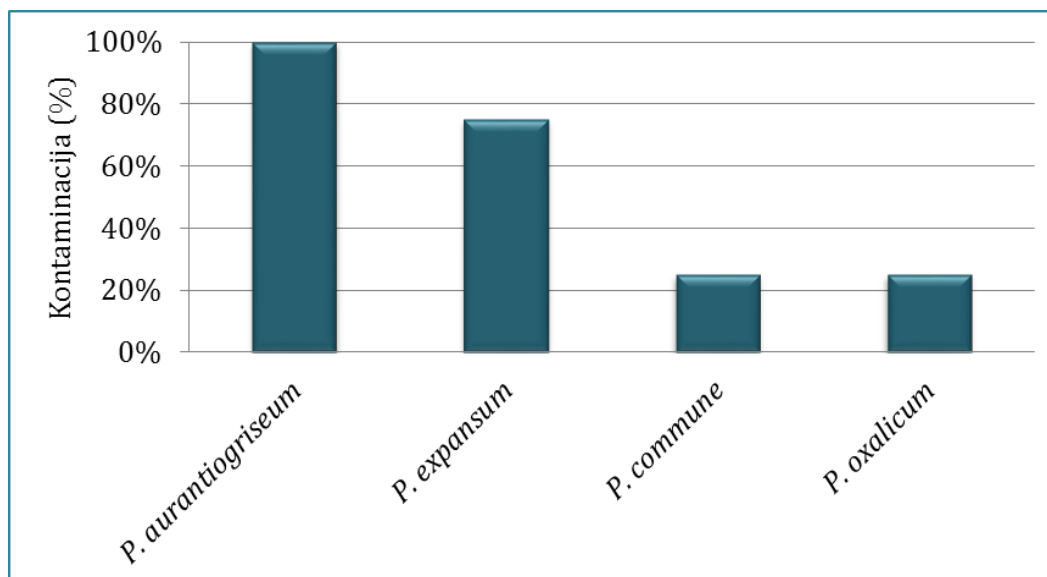
**Slika 5.46.** Učestalost pojavljivanja rodova plesni u kontrolnim uzorcima testanih kora

Najdominantniji rod bio je rod *Penicilium* koji je bio zastupljen sa 4 vrste, zatim rod *Aspergillus* sa 2 vrste, dok su ostali rodovi bili zastupljeni sa po jednom vrstom. Najzastupljenije vrste bile su *P. aurantiogriseum* i *C. cladosporioides* sa 100% zastupljenosti. *P. expansum* bio je zastupljen sa 75%. Zastupljenost *A. candidus* i *R. stolonifer* bila je 50%, dok su ostale vrste bile su zastupljene sa 25% (Slika 5.47.).



**Slika 5.47.** Zastupljenost vrsta plesni u kontrolnim uzorcima testanih kora

Od izolovanih *Penicillium* vrsta, dominantnija vrsta bila je *P. aurantiogriseum* sa učestalošću pojavljivanja 100%. Zastupljenost *P. expansum* iznosila je 75%, dok su *P. commune* i *P. oxalicum* bile zastupljene sa 25% (Slika 5.48.).



**Slika 5.48.** Učestalost pojavljivanja *Penicillium* vrsta u kontrolnim uzorcima testanih kora

Dobijeni rezultati ispitivanja su u skladu sa literaturnim podacima. Prema navodima drugih autora, najčešći uzročnici kvarenja pekarskih proizvoda jesu plesni. Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja testanih kora bez dodatka etarskih ulja tokom perioda skladištenja, najčešće izolovane plesni bile su *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. i *Rhizopus* spp., što je takođe u skladu sa literaturnim navodima drugih autora. Rast plesni na pekarskim proizvodima tokom njihovog skladištenja je ozbiljan problem koji rezultira ekonomskim gubicima. Prema navodima **Abellana i sar., (1997)** najčešće vrste plesni izolovane kod španskih pekarskih proizvoda bile su vrste *Eurotium*, *Cladosporium* i najkserotolerantnije vrste rodova *Penicillium* i *Aspergillus*. **Jespersen i sar. (1994)** saopštili su da je u svežem kukuruznom testu utvrđeno prisustvo plesni reda od  $10^5$  cfu/g pri čemu su identifikovane vrste roda *Penicillium*, *Aspergillus* i *Fusarium*. **Jarvis (2001)** otkrio je da je kvarenje plesnima uzrokovalo neželjene mirise i često se nalaze na površini proizvoda. Najčešće plesni koje se nalaze na pekarskim proizvodima su: *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Monilia* sp., *Mucor* sp. i *Eurotium* sp. Slično su izneli i **Spicher (1980)**, **Williams (1990)** i **Abellana i sar. (1997)** da su najčešće izolovane vrste plesni iz pekarskih proizvoda vrste *Eurotium*, *Aspergillus* i *Penicillium*. **Hocking (1988)** navodi da su najčešće *Penicillium* vrste zastupljene u pekarskim proizvodima vrste *P. aurantiogriseum* i *P. chrysogenum*.

**Pundir i Jain (2011)** saopštili su rezultate ispitivanja mikropopulacije različitih pekarskih proizvoda kao što su hleb, keksi, kolači, pecivo i lepinje. Iz ispitivanih uzoraka izolovane su vrste plesni: *Aspergillus luchuensis*, *A. flavus*, *A. terreus*, *Alternaria alternata*, *A. tenuissima*, *Penicillium oxalicum*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor* i *Scopulariopsis* vrste. Najveći broj plesni izolovan je iz hleba, zatim kolača, a najmanje iz keksa. Evidencija najmanjeg broja plesni u uzorcima keksa može biti u korelaciji sa nižim sadržajem vlage. Pojava većeg broja plesni u hlebu nego kod ostalih pekarskih proizvoda može biti posledica vrednosti  $a_w$  koja se smatra jednim od važnih faktora koji utiču na mikrobiološko kvarenje pekarskih proizvoda. Takođe, veći broj mikroorganizama u uzorcima hleba najverovatnije je zavisio i od brašna koje može da sadrži puno mikroorganizama i/ili od higijenskih uslova okoline u pekari koja može da kontaminira hleb tokom perioda hlađenja (**Ogundare i Adetuii, 2003**).

## 5.5.4. Osnovni parametri kvaliteta

### 5.5.4.1. Vrednosti aktivnosti vode ( $a_w$ ) ispitivanih testanih kora

Vrednosti aktivnosti vode ( $a_w$ ) testanih kora tokom skladištenja na temperaturi od 8°C u periodu od 21 dana prikazane su u Tabeli 5.31.

**Tabela 5.31.** Vrednosti  $a_w$  uzoraka testanih kora tokom skladištenja

Uzorak/ Period ispitivanja	0. dan	5. dan	7. dan	14. dan	21. dan
<b>PBB</b>	0,94±0,01 <sup>bAB</sup>	0,94±0,01 <sup>bAB</sup>	0,93±0,01 <sup>aA</sup>	0,93±0,01 <sup>aA</sup>	0,92±0,01 <sup>aA</sup>
<b>PIB</b>	0,93±0,01 <sup>aA</sup>	0,93±0,01 <sup>aA</sup>	0,93±0,01 <sup>aA</sup>	0,93±0,01 <sup>aA</sup>	0,92±0,01 <sup>aA</sup>
<b>HIB</b>	0,95±0,01 <sup>aB</sup>	0,95±0,01 <sup>aB</sup>	0,95±0,01 <sup>aB</sup>	0,94±0,01 <sup>aB</sup>	0,94±0,01 <sup>aB</sup>
<b>KIB</b>	0,94±0,01 <sup>aAB</sup>	0,93±0,01 <sup>aA</sup>	0,93±0,01 <sup>aA</sup>	0,93±0,01 <sup>aA</sup>	0,92±0,01 <sup>aA</sup>

PBB-testane kore od pšeničnog brašna Tip 500; PIB-testane kore sa 10% pšeničnog integralnog brašna; HIB-testane kore sa 10% heljadinog integralnog brašna; KIB-testane kore sa 10% kukuruznog integralnog brašna

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa. Različita velika slova u eksponentima kolona označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti između uzoraka, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Vrednosti  $a_w$  uzoraka testanih kora nultog dana kretale su se od  $0,95 \pm 0,01$  do  $0,93 \pm 0,01$ . Najniža vrednost  $a_w$  uočena je kod uzoraka testanih kora sa 10% pšeničnog integralnog brašna. To se može povezati sa činjenicom da je došlo do vezivanja vode od strane prehrambenih vlakana pšeničnog integralnog brašna. Tokom perioda sladištenja došlo je do blagog opadanja vrednosti  $a_w$ . Nakon 21 dana skladištenja vrednosti  $a_w$  uzoraka testanih kora kretale su se od  $0,94 \pm 0,01$  do  $0,92 \pm 0,01$ . Najviša vrednost  $a_w$  ( $0,94 \pm 0,01$ ) uočena je kod uzoraka testanih kora sa dodatkom heljdinog integralnog brašna, dok je kod ostalih uzorka testanih kora  $a_w$  vrednosti iznosila  $0,92 \pm 0,01$  (Tabela 5.31.).

Dobijeni rezultati ispitivanja  $a_w$  testanih kora su u skladu literaturnim navodima drugih autora. Poznato je da voda igra ključnu ulogu kada je u pitanju kvalitet i stabilnost hrane jer može da reaguje sa drugim molekulima pri čemu utiče na njihovu konformaciju, pokretljivost i funkcionalnost. Kada je u pitanju kvarenje hrane  $a_w$  vrednost je važnija od ukupne količine prisutne vode jer je  $a_w$  determinantan faktor za rast mikroorganizama i dobro je povezan sa većinom reakcija razgradnje hemijske, enzimske i fizičke prirode (**Maltini i sar., 2003**). Ovo je posebno važan faktor za očuvanje hrane srednjeg i visokog sadržaja vode. Za pekarske proizvode čija se  $a_w$  vrednost kreće u intervalu od 0,75 do 0,90 plesni koje izazivaju kvarenje obično su najkserofilnije vrste u rodu *Aspergillus*. *Eurotium* vrste optimalno rastu pri  $a_w$  od 0,78 do 0,80 na podlogama koje sadrže visoke koncentracije šećera ili soli (**ICMSF, 1980**). **Abellana i sar. (2001)** ispitivali su rast plesni u zavisnosti od vrednosti  $a_w$  na podlozi koja po sastavu odgovara uobičajenom pekarskom proizvodu – biskvitu. Prema rezultatima koje su saopštili minimalne vrednosti  $a_w$  za rast *Penicillium* vrsta iznosile su 0,85-0,90. Za *A. flavus* minimalna vrednost  $a_w$  na kojoj je uočen rast bila je 0,90 pri temperature od 15,8°C. Njihova studija je pokazala da se rast ispitivanih vrsta plesni na podlozi koja po sastavu odgovara uobičajenom pekarskom proizvodu – biskvitu može sprečiti ako je vrednost  $a_w$  niža od 0,85. Kontrola rasta plesni u pekarskim proizvodima obično se zasniva na održavanju dovoljno niske vrednosti  $a_w$ . Pri vrednosti  $a_w$  od 0,75 može se postići produženje roka trajanja bez rasta plesni i do 6 meseci. Više vrednosti  $a_w$ , npr. iznad 0,77, rezultiraće samo kratkim produženjem roka trajanja. Međutim, s obzirom da niska vrednost  $a_w$  može negativno uticati na kvalitet proizvoda i

prouzrokovati promene u obliku i teksturi, mora se voditi računa pri smanjenju  $a_w$  vrednosti proizvoda (Seiler, 2000).

#### 5.5.4.2. Sadržaj vlage u testanim korama

Praćenje sadržaja vlage u proizvodu može biti dobar pokazatelj promena koje su se dogodile tokom perioda skladištenja.

Rezultati sadržaja vlage testanih kora tokom skladištenja na temperaturi od 8°C u periodu od 21 dana prikazani su u Tabeli 5.32.

**Tabela 5.32.** Sadržaj vode uzoraka testanih kora tokom skladištenja (%)

Uzorak/ Period ispitivanja	0. dan	5. dan	7. dan	14. dan
<b>PBB</b>	28,01±0,01 <sup>aA</sup>	31,55±0,07 <sup>cC</sup>	31,68±0,04 <sup>dC</sup>	31,22±0,03 <sup>bC</sup>
<b>PIB</b>	29,00±0,14 <sup>cB</sup>	27,90±0,01 <sup>aA</sup>	28,29±0,01 <sup>bA</sup>	30,27±0,04 <sup>dA</sup>
<b>HIB</b>	29,13±0,04 <sup>aB</sup>	32,00±0,01 <sup>dD</sup>	31,94±0,04 <sup>cD</sup>	31,03±0,01 <sup>bC</sup>
<b>KIB</b>	28,10±0,07 <sup>aA</sup>	30,82±0,02 <sup>dB</sup>	30,65±0,07 <sup>cB</sup>	30,53±0,04 <sup>bB</sup>

PBB-testane kore od pšeničnog brašna Tip 500; PIB-testane kore sa 10% pšeničnog integralnog brašna; HIB-testane kore sa 10% heljadinog integralnog brašna; KIB-testane kore sa 10% kukuruznog integralnog brašna

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa. Različita velika slova u eksponentima kolona označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti između uzoraka, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Sadržaj vode uzoraka testanih kora na dan proizvodnje (nulti dan) kretao se u intervalu od 28,01±0,01% do 29,13±0,04%. Kod uzoraka testanih kora od pšeničnog brašna tip 500 uočen je najmanji sadržaj vode, dok su uzorci testanih kora sa dodatkom heljadinog integralnog brašna imali najveći sadržaj vode. Nakon pet dana skladištenja kod svih uzoraka testanih kora uočen je blagi porast sadržaja vode izuzev kod uzoraka testanih kora sa dodatkom pšeničnog integralnog brašna, gde je zabeležen blagi pad sadržaja vode i iznosio je 27,90±0,01%. Tokom perioda skladištenja sadržaj vode se blago povećao tako da se nakon 14 kretao u intervalu od 30,27±0,04% do 31,22±0,03%. Povećanje sadržaja vode nakon perioda skladištenja ukazuje na pojavu kondenzacije koja može biti posledica

prisustva mikološke populacije u uzorcima. Nakon 21 dana skladištenja uzorci nisu ispitivani zbog pojave kondenzacije i povećanog broja plesni (Tabela 5.32.).

#### 5.5.4.3. Stepen kiselosti testanih kora

Rezultati stepena kiselosti testanih kora tokom skladištenja na temperaturi od 8°C u periodu od 21 dana prikazani su u Tabeli 5.33.

**Tabela 5.33.** Stepen kiselosti testanih kora tokom skladištenja (ml (1mol NaOH/l))

Uzorak/ Period ispitivanja	0. dan	5. dan	7. dan	14. dan
<b>PBB</b>	1,93±0,01 <sup>bA</sup>	1,70±0 <sup>aB</sup>	2,35±0,03 <sup>cC</sup>	2,42±0,02 <sup>dB</sup>
<b>PIB</b>	2,1±0,04 <sup>bC</sup>	1,57±0,08 <sup>aA</sup>	2,15±0,07 <sup>bB</sup>	2,45±0,01 <sup>cB</sup>
<b>HIB</b>	2,42±0,06 <sup>bD</sup>	1,89±0,03 <sup>aD</sup>	2,52±0,03 <sup>cD</sup>	2,97±0,03 <sup>dC</sup>
<b>KIB</b>	2,02±0,02 <sup>cB</sup>	1,80±0 <sup>aC</sup>	1,94±0,01 <sup>bA</sup>	2,03±0,01 <sup>cA</sup>

PBB-testane kore od pšeničnog brašna Tip 500; PIB-testane kore sa 10% pšeničnog integralnog brašna; HIB-testane kore sa 10% heljadinog integralnog brašna; KIB-testane kore sa 10% kukuruznog integralnog brašna

Različita mala slova u eksponentima redova označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti u različitim periodima ispitivanja, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa. Različita velika slova u eksponentima kolona označavaju statistički značajne razlike srednjih vrednosti između uzoraka, na nivou  $p < 0,05$ , na osnovu Tukey-evog HSD testa.

Stepen kiselosti testanih kora na dan proizvodnje (nulti dan) kretao se u intervalu od 1,93±0,01 do 2,42±0,06. Najniži stepen kiselosti uočen je kod uzoraka testanih kora od pšeničnog brašna tip 500, dok je najviši stepen kiselosti bio kod uzoraka testanih kora sa dodatkom heljadinog integralnog brašna. Nakon pet dana skladištenja zabeležen je blagi pad stepena kiselosti pri čemu najviša vrednost ponovo zabeležena kod uzoraka testanih kora sa dodatkom heljadinog brašna, a najniža vrednost kod uzoraka testanih kora sa dodatkom pšeničnog integralnog brašna. Nakon sedam dana skladištenja došlo je porasta stepena kiselosti, a vrednosti su se kretale od 1,94±0,01 kod uzoraka testanih kora sa dodatkom kukuruznog integralnog brašna do 2,52±0,03 kod uzorka testanih kora sa dodatkom heljadinog integralnog brašna. Posle 14 dana skladištenja uočen je porast stepena kiselosti kod svih uzoraka, najviša vrednost je zabeležena kod uzoraka testanih kora sa dodatkom



heljadinog integralnog brašna i iznosila  $2,97 \pm 0,03$ . Nakon 21 dana skladištenja uzorci nisu ispitivani zbog povećanog broja plesni (Tabela 5.33.).

U toku skladištenja dešavaju se različite promene unutar proizvoda, usled mikrobioloških aktivnosti, delovanja, enzima i kiseonika. Usled toga dolazi do razlaganja jedinjenja veće molekulske mase na jedinjenja manje molekulske mase i kiseline koje mogu dovesti do povećanja kiselinskog stepena, ali i senzorskih promena proizvoda. Povećanje kiselinskog stepena može biti indikator važnih strukturnih promena samog proizvoda.

Dobijeni rezultati ispitivanja su u skladu sa literaturnim navodima. Kako navodi **Psodorov (2019)** rezultati kiselinskog stepena pita sa sirom na dan proizvodnje kretali su se u intervalu od  $2,18 \pm 0,06$  kod pita pakovanih u sedmoslojnu ambalažu MAP i skupljačem kiseonika do  $2,29 \pm 0,16$  kod uzoraka pita pakovanih u petoslojnu ambalažu ATM i skupljačem kiseonika. Nakon 12 nedelje skladištenja kiselinski stepen pita pakovanih u sedmoslojnu ambalažu MAP i skupljačem kiseonika iznosio je  $3,27 \pm 0,59$ , kod pita pakovanih u petoslojnu ambalažu ATM i skupljačem kiseonika  $2,72 \pm 0,16$ . Nakon 16 nedelje skladištenja kod pita pakovanih u petoslojnu ambalažu ATM i skupljačem kiseonika vrednost kiselinskog stepena ostala je ista, a kod pita pakovanih u sedmoslojnu ambalažu MAP i skupljačem kiseonika zbog povećanog broja mikroorganizama nije merena vrednost kiselinskog stepena. Kako navodi **Psodorov (2019)** moguće je da je na porast vrednosti kiselinskog stepena uticao povećan broj mikroorganizama. Rezultati ispitivanja kiselinskog stepena testanih kora tokom perioda skladištenja su u skladu sa pretpostavkom koju je izneo **Psodorov (2019)** na osnovu dobijenih rezultata.

### **5.5.5. Senzorska ocena testanih kora sa dodatkom etarskih ulja lekovitih i začinskih biljaka**

#### **5.5.5.1. Senzorska ocena testanih kora primenom deskriptivne senzorske analize i diskriminatornog testa trougla**

Rezultati senzorske ocene testanih kora primenom deskriptivne senzorske analize prikazani su u Tabeli 5.34.

**Tabela 5.34.** Rezultati deskriptivne senzorske analize testanih kora

	PBB	PIB	HIB	KIB
<b>Intenzitet bež boje</b>	20,0 <sup>c</sup> ±2,97	43,5 <sup>a</sup> ±2,43	15,0 <sup>d</sup> ±2,00	35,5 <sup>b</sup> ±3,15
<b>Ujednačenost boje</b>	57,2 <sup>b</sup> ±10,53	26,0 <sup>c</sup> ±3,74	20,3 <sup>c</sup> ±2,88	70,3 <sup>a</sup> ±7,45
<b>Miris na dodate žitarice</b>	57,0 <sup>ab</sup> ±10,12	54,2 <sup>ab</sup> ±8,16	48,8 <sup>b</sup> ±2,14	59,3 <sup>a</sup> ±5,82
<b>Aroma na dodate žitarice</b>	2,33 <sup>d</sup> ±1,03	17,7 <sup>a</sup> ±4,93	10,0 <sup>b</sup> ±1,67	5,83 <sup>c</sup> ±1,60
<b>Aroma na testo</b>	43,3 <sup>c</sup> ±4,72	42,5 <sup>c</sup> ±3,45	51,5 <sup>b</sup> ±2,51	59,7 <sup>a</sup> ±4,45
<b>Površinska hrapavost</b>	8,17 <sup>c</sup> ±5,23	20,2 <sup>ab</sup> ±6,52	25,0 <sup>a</sup> ±7,07	11,0 <sup>bc</sup> ±2,76
<b>Vlažnost</b>	70,8 <sup>a</sup> ±3,71	68,3 <sup>a</sup> ±5,01	57,3 <sup>c</sup> ±4,23	63,3 <sup>b</sup> ±3,33
<b>Elastičnost</b>	14,2 <sup>a</sup> ±5,85	15,3 <sup>a</sup> ±6,44	7,67 <sup>b</sup> ±3,33	10,5 <sup>ab</sup> ±4,76
<b>Veličina čestica</b>	14,8 <sup>c</sup> ±5,81	64,3 <sup>a</sup> ±6,19	69,3 <sup>a</sup> ±2,73	52,7 <sup>b</sup> ±8,96
<b>Lepljivost</b>	5,00 <sup>b</sup> ±1,79	6,33 <sup>b</sup> ±1,97	8,00 <sup>b</sup> ±3,63	18,0 <sup>a</sup> ±5,22

PBB-testane kore od pšeničnog brašna Tip 500; PIB-testane kore sa 10% pšeničnog integralnog brašna; HIB-testane kore sa 10% heljdinog integralnog brašna; KIB-testane kore sa 10% kukuruznog integralnog brašna  
 Rezultati su aritmetička sredina ocena panela ocenjivača (n=8) ±standardna devijacija  
 Vrednosti u istoj koloni označene različitim slovima statistički se značajno razlikuju ( $p < 0,05$ )

Na osnovu rezultata senzorske ocene testanih kora (Tabela 5.34.) primenom deskriptivne senzorske analize, može se zaključiti da su najveće razlike uočene u pogledu intenziteta i ujednačenosti boje testanih kora čemu je osim prirode samih sirovina, pretpostavlja se doprinela i značajno ( $p < 0,05$ ) različita veličina uočenih čestica kao i površinska hrapavost. Najkrupnije čestice ( $p < 0,05$ ) uočene su kod testanih kora proizvedenih sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna i 10% heljdinog integralnog brašna. Nadalje, profili proizvedenih testanih kora se značajno ( $p < 0,05$ ) razlikuju po aromi žitarica, koje su u određenom udelu dodate u formulaciju kora, pri čemu se kao testane kore sa najintenzivnijom aromom ističu testane kore proizvedene sa dodatkom pšeničnog integralnog brašna, dok testane kore proizvedene od pšeničnog brašna tip 500 imaju veoma blagu, slabo izraženu aromu. Sve analizirane testane kore pokazale su malu elastičnost, značajno ( $p < 0,05$ ) najmanju elastičnost pokazale su testane kore sa dodatkom

heljadinog integralnog brašna koje su imale i značajno ( $p < 0,05$ ) najveću površinsku hrapavost. Slaba elastičnost kora može biti posledica njihove velike vlažnosti, koja je doprinela i da se intenzivnije oseti miris na dodata brašna.

Rezultati senzorske ocene testanih kora primenom diskriminatornog testa trougla prikazani su u Tabeli 5.35.

**Tabela 5.35.** Rezultati diskriminatornog testa trougla

Uzorak	Etarsko ulje mente			Etarsko ulje kima			Etarsko ulje ruzmarina		
	0,085% M	0,17% M	0,025% M	0,085% K	0,17% K	0,255% K	0,71% R	1,42% R	2,13% R
Kontrolna									
PBB	7	3	15*	5	6	10	8	11*	10
PIB	4	4	4	3	6	2	2	4	10
HIB	3	7	12*	3	3	6	8	13*	11*
KIB	10	6	11#	6	6	5	8	7	6

PBB-testane kore od pšeničnog brašna Tip 500; PIB-testane kore sa 10% pšeničnog integralnog brašna; HIB-testane kore sa 10% heljadinog integralnog brašna; KIB-testane kore sa 10% kukuruznog integralnog brašna  
Vrednosti u tabeli koje su podebljane i označene crvenom bojom ukazuju da je rezultat značajan za vrednost  $\alpha$  rizika 0,05

# Ukazuje da su rezultati visoko značajni za vrednost  $\alpha$  rizika 0,01

\* Ukazuje da su rezultati sa najvišim nivoom značajnosti za vrednost  $\alpha$  rizika 0,001

Rezultati diskriminatornog testa ukazuju da su generalno razlike u osetu mirisa uzoraka testanih kora značajne pri višim koncentracijama dodatog etarskog ulja. Najvećim razlikama je doprineo dodatak etarskog ulja ruzmarina, a najmanje kima. Testane kore od pšeničnog integralnog brašna su pokazale najveću „otpornost“ u pogledu promene mirisa, što je pretpostavlja se posledica inače intenzivnog mirisa ovih kora, koji je maskirao miris dodatog etarskog ulja. Sa druge strane, dodatak različitih etarskih ulja najviše je bio osetan u testanim korama od belog pšeničnog brašna, i u testanim korama sa dodatkom heljadinog integralnog brašna, opet najverovatnije kao posledica nešto slabije izraženog osnovnog mirisa ovih testanih kora na heljdino brašno.

Dobijeni rezultati ispitivanja su u skladu sa literaturnim navodima koji ukazuju na uticaj etarskih ulja na senzorska svojstva pekarskih proizvoda. Prema rezultatima senzorne ocene koje su saopštili **Nielsen i Rios (2000)** efekat isparljivih komponenti u pakovanom pšeničnom i raženom hlebu izraženiji je bio kod pšeničnog hleba nego kod raženog hleba, dok kod raženog hleba nije imao uticaja na promenu ukusa. Etarsko ulje narandže ispoljila je antimikrobnu aktivnost na rezanom hlebu, međutim značajno je uticalo na senzorska svojstva u smislu boje i izgleda kore, ukusa, teksture i arome (**Salim-ur-Rehman i Nawaz, 2007**). Istraživanja koja su sprovedli **Vasileve i sar. (2018)** na hlebu u koji je bio dodat trop lavande u koncentracijama od 2,5% i 5% pokazala su da je za potrošače bio prihvatljiviji hleb sa 2,5% lavande.

## 6. Zaključak

Na osnovu postavljenih ciljeva doktorske disertacije, izvršenih ispitivanja, dobijenih i prodiskutovanih rezultata, mogu se izneti sledeći zaključci:

- Svi uzorci pšenice, kukuruza i heljde bili su kontaminirani plesnima. Intenzitet kontaminacije bio je najveći kod heljde (46%), zatim kod kukuruza (31%) i kod pšenice (23%). Iz ovih uzoraka najčešće su izolovane plesni iz roda *Fusarium* (100%), zatim iz rodova *Alternaria*, *Cladosporium* i *Penicillium* i rodova *Aspergillus*, *Rhizopus* i *Scopulariopsis*. Najčešće izolovane vrste bile su *F. sporotrichioides* (100%), *A. alternata*, *C. cladosporioides* i *F. proliferatum*.
- Ispitivani uzorci pšeničnog brašna tip 500, pšeničnog integralnog brašna, heljdinog integralnog i kukuruznog integralnog brašna bili su kontaminirani plesnima. Intenzitet kontaminacije bio je najveći kod heljdinog integralnog brašna (48%), zatim kukuruznog (33%), pšeničnog integralnog brašna (13%) i pšeničnog brašna tip 500 (6%). Iz pšeničnog brašna tip 500 najčešće su izolovane plesni iz rodova *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* i *Penicillium*, iz pšeničnog integralnog brašna *Cladosporium*, *Fusarium* i *Penicillium*, heljdinog integralnog brašna *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Chrysonilia* i *Penicillium* i iz kukuruznog integralnog brašna *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* i *Rhizopus*. Najširu rasprostranjenost u brašnima žita imao je rod *Penicillium* (100%) sa najčešće izolovanom vrstom *P. aurantiogriseum*, a sledili su rodovi *Aspergillus*, *Cladosporium* i *Fusarium*.
- Prisustvo potencijalno toksigenih vrsta uzvrđeno je kod 72,7% ispitivanih uzoraka žita i 78,6% uzoraka brašna.
- Vrednosti aktivnosti vode ( $a_w$ ) brašna od žitarica kretale su se od 0,65 do 0,68.

- Glavne komponente etarskog ulja mente bile su mentol, menton, mentil-acetat, kima karvon i limonene, a ruzmarina 1,8-cineol, zatim kamfor,  $\alpha$ -pinen i  $\beta$ -pinen.
- Vrednosti MIC i MFC ukazuju da su etarska ulja mente i kima bila mnogo efikasnija u inhibiciji rasta plesni u odnosu na ruzmarin.
- Vrednosti MFC dobijene za primenjene koncentracije etarskih ulja pokazuju visoku fungicidnu aktivnost ulja mente prema *A. alternata*, *C. cladosporioides*, *F. sporotrichioides* i *P. expansum*, umerenu prema *F. proliferatum*, *A. versicolor*, *A. fumigatus*, *P. oxalicum*, slabiju prema *A. fumigatus*, slabu prema *A. flavus* i najslabiju prema *P. aurantiogriseum*.
- Etarsko ulje kima ispoljilo je visoku fungicidnu aktivnost prema *C. cladosporioides*, *A. alternata*, *F. sporotrichioides* i *P. expansum*, umerenu prema *P. aurantiogriseum*, *A. versicolor*, *F. proliferatum*, nešto slabiju prema *A. niger*, *A. flavus* i *A. fumigatus* i najslabiju prema *P. oxalicum*.
- Fugicidna aktivnost etarskog ulja ruzmarina može se okarakterisati kao umerena prema *C. cladosporioides*, *F. sporotrichioides*, slabija prema *A. alternata*, *F. proliferatum*, *P. expansum* i *A. versicolor*, slaba prema *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus* i *P. aurantiogriseum* i najslabija prema *P. oxalicum*.
- Iz uzoraka testanih kora bez dodatka etarskih ulja najširu rasprostranjenost imali su rod *Penicillium* i *Cladosporium* (100%), zatim *Aspergillus* (75%), *Rhizopus* (50%) i *Fusarium* (25%). Najdominantniji rod bio je *Penicillium*, koji je bio zastupljen sa 4 vrste. Od *Penicillium* vrsta češće je izolovana vrsta *P. aurantiogriseum*.
- Kada su primenjena etarska ulja kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% i ruzmarina u koncentraciji od 2,13% nakon 14 dana skladištenja, iz uzorka testanih kora proizvedenih od belog pšeničnog brašna tip 500 bila je izolovana samo jedna vrsta plesni i to *P. aurantiogriseum*. U slučaju primene etarskih ulja mente u koncentracijama od 0,17% i 0,255%, kima u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255% i ruzmarina u koncentracijama od 2,13% nakon 21 dana skladištenja, bile su izolovane dve vrste plesni *P. aurantiogriseum* i *P. expansum*.
- Kada je primenjeno etarsko ulje kima u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255% nakon 14 dana skladištenja, iz uzoraka testanih kora proizvedenih sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna izolovana je samo jedna vrsta plesni i

to *P. aurantiogriseum*. U slučaju primene etarskih ulja mente u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255%, kima u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255% i ruzmarina u koncentracijama od 0,71%, 1,42% i 2,13% nakon 21 dana skladištenja, bile su izolovane dve vrste plesni *P. aurantiogriseum* i *P. expansum*.

- Kada je primenjeno etarsko ulje kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% nakon 14 dana skladištenja, iz uzoraka testanih kora proizvedenih sa dodatkom 10% heljdinog integralnog brašna izolovana je samo jedna vrsta plesni i to *P. aurantiogriseum*. U slučaju primene etarskih ulja mente u koncentraciji od 0,255% i kima u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255% nakon 21 dana skladištenja, bile su izolovane dve vrste plesni *P. aurantiogriseum* i *P. expansum*.
- Kada su primenjena etarska ulja kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% i ruzmarina u koncentraciji od 2,13% nakon 14 dana skladištenja, iz uzorka testanih kora proizvedenih sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna bila je izolovana samo jedna vrsta plesni i to *P. aurantiogriseum*. U slučaju primene etarskih ulja mente u koncentraciji 0,255% i kima u koncentracijama od 0,085%, 0,17% i 0,255% nakon 21 dana skladištenja, bile su izolovane tri vrste plesni *P. aurantiogriseum*, *P. expansum* i *R. stolonifer*.
- Produženje roka održivosti testanih kora od belog pšeničnog brašna tip 500 do 7 dana postignuto je primenom etarskog ulja mente u koncentracijama od 0,17% i 0,255% i etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%. Za postizanje trajnosti do 14 dana preporučuje se dodatak etarskog ulja kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255%.
- Produženje roka održivosti testanih kora sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna do 7 dana postignuto je primenom etarskog ulja mente u koncentracijama od 0,17% i 0,255%. Za postizanje trajnosti do 14 dana preporučuje se dodatak etarskog ulja kima u koncentracijama od 0,085, 0,17% i 0,255% i etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%.
- Produženje roka održivosti testanih kora sa dodatkom 10% heljdinog integralnog brašna do 7 dana postignuto je primenom etarskog ulja mente u koncentracijama od 0,17% i 0,255%. Za postizanje trajnosti do 14 dana preporučuje se dodatak etarskog

ulja kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255% i etarskog ulja ruzmarina u koncentracijama od 1,42% i 2,13%.

- Produženje roka održivosti testanih kora sa dodatkom 10% kukuruznog integralnog brašna do 7 dana postignuto je primenom etarskog ulja mente u koncentraciji od 0,255% i etarskog ulja kima u koncentracijama od 0,17% i 0,255%. Za postizanje trajnosti do 14 dana preporučuje se dodatak etarskog ulja ruzmarina u koncentraciji od 2,13%.
- Vrednost aktivnosti vode ( $a_w$ ) uzoraka testanih kora kretala se od 0,93 do 0,95. Tokom perioda skladištenja vrednost  $a_w$  je opadala. Nakon 21 dana skladištenja vrednost  $a_w$  kretala se od 0,92 do 0,94.
- Prosečna vrednost sadržaja vlage ispitivanih testanih kora kretala se od 28,01 do 29,13%. Praćenjem pojedinačnih rezultata tokom perioda skladištenja sadržaj vlage je rastao. Nakon 14 dana skladištenja vrednost sadržaja vlage kretao se od 30,27 do 31,22%. Rezultati stepena kiselosti ispitivanih testanih kora kretali su se od 1,93 do 2,42. Nakon 14 dana skladištenja rezultati kiselinskog stepena su se kretali od 2,03 do 2,97.
- Rezultati deskriptivne metode senzorske ocene testanih kora pokazali su najveće razlike uočene u pogledu intenziteta i ujednačenosti boje. Profili testanih kora zanačajno su se razlikovali po aromi žitarica, pri čemu su se kao kore sa najintenzivnijom aromom isticale kore sa pšeničnim integralnim brašnom. Sve analizirane testane kore pokazale su malu elastičnost.
- Rezultati diskriminatornog testa pokazali su da su razlike u osetu mirisa testanih kora značajne pri višim koncentracijama dodatog etarskog ulja. Najvećim razlikama je doprineo dodatak etarskog ulja ruzmarina, a najmanje kima. Testane kore od integralnog pšeničnog brašna su pokazale najveću „otpornost“ u pogledu promene mirisa. Dodatak različitih etarskih ulja najviše je bio osetan u korama od belog pšeničnog brašna, i u korama sa dodatkom integralnog heljdinog brašna.

Sagledavajući sve ispitivane parametre testanih kora od belog pšeničnog brašna, testanih kora sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna, 10% heljdinog integralnog brašna i 10% kukuruznog integralnog brašna, primena



etarskih ulja mente, kima i ruzmarina smanjila je mikološku kontaminaciju testanih kora u smislu redukcije i inhibicije rasta plesni i obezbedila održivost testanih kora 7 i 14 dana. Razlike u osetu mirisa testanih kora značajne su pri višim koncentracijama etarskih ulja. Najvećim razlikama je doprineo dodatak etarskog ulja ruzmarina, a najmanje dodatak etarskog ulja kima. Testane kore proizvedene sa dodatkom 10% pšeničnog integralnog brašna pokazale su najveću otpornost u pogledu promene mirisa.

Ova istraživanja predstavljaju osnovu za dalja ispitivanja uticaja etarskih ulja na druge pekarske proizvode upotrebom različitih koncentracija etarskih ulja, različitih kombinacija etarskih ulja, kao i kombinacije etarskih ulja sa različitim uslovima pakovanja.

## 7. Literatura

1. **Abellana, M., Ramos, A. J., Sanchis, V., Nielsen, P. V. (2000).** Effect of modified atmosphere packaging and water activity on growth of *Eurotium amstelodami*, *E. chevalieri* and *E. herbariorum* on a sponge cake analogue. *Journal of Applied Microbiology*, 88(4), 606-616.
2. **Abellana, M., Sanchis, V., Ramos, A. J. (2001).** Effect of water activity and temperature on growth of three *Penicillium* species and *Aspergillus flavus* on a sponge cake analogue. *International Journal of Food Microbiology*, 71(2-3), 151-157.
3. **Abellana, M., Torres, L., Sanchis, V., Ramos, A. J. (1997).** Characterisation of different industrial bakery products. II. Study of mycobiota. *Alimentaria*, 287, 51-56.
4. **Abramson, D., McCallum, B., Tekauz, A., Smith, D. M. (2004).** HT-2 and T-2 toxins in barley inoculated with *Fusarium sporotrichioides*. *Canadian Journal of Plant Science*, 84(4), 1189-1192.
5. **Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. (1998).** Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1739-1745.
6. **Adams, R. P. (1995).** Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, USA.
7. **Adom, K. K., Sorrells, M. E., Liu, R. H. (2005).** Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 2297-2306.

- 8. Afzal, S., Shehzad, A., Randhawa, M. A., Asghar, A., Shoaib, M., Jahangir, M. A. (2013).** Health benefits and importance of utilizing wheat and rye. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 23(4), 212-222.
- 9. Ackermann, A. (1998).** Mycoflora of South African barley and malt. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 56(4), 169-176.
- 10. Al Yousef, S. A. (2013).** Antifungal activity of volatiles from lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and peppermint (*Mentha piperita*) oils against some respiratory pathogenic species of *Aspergillus*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(6), 261-272.
- 11. Alborch, L., Bragulat, M. R., Castellá, G., Abarca, M. L., Cabañes, F. J. (2012).** Mycobiota and mycotoxin contamination of maize flours and popcorn kernels for human consumption commercialized in Spain. *Food Microbiology*, 32(1), 97-103.
- 12. Al-Defiery, M. E. J., Merjan, A. F. (2015).** Mycoflora of mold contamination in wheatflour and storage wheat flour. *Mesopotamia Environmental Journal*, 1(2), 18-25.
- 13. Amusa, N. A., Ashaye, O. A., Oladapo, M. O. (2005).** Microbiological quality of ogi and soy-ogi(a Nigerian fermented cereal porridge) widely consumed and notable weaning food in southern Nigeria. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 3(2), 81-83.
- 14. Asadzadeh, J., Teymori, R., Ghazanfaridad, N., Fakhernia, M., Haghghat - Afshar, N., Blouki, M., Kheiri, A., Hassanzadazar, H., Bahmani, M. (2014).** Fungal contamination of produced wheat flour in West Azerbaijan, northwest of Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4, S836-S839.
- 15. Aşkun, T. (2006).** Investigation of fungal species diversity of maize kernels. *Journal of Biological Sciences*, 6, 275-281.
- 16. Ayerst, G. (1969).** The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi. *Journal of Stored Products Research*, 5(2), 127-141.
- 17. Bacon, C. W., Yates, I. E., Hinton, D. M., Meredith, F. (2001).** Biological control of *Fusarium moniliforme* in maize. *Environmental Health Perspectives*, 109(2), 325-332.

18. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
19. Barbour, E. K., Sharif, M. A., Sagherian, V. K., Habre, A. N., Talhouk, R. S., Talhouk, S. N. (2004). Screening of selected indigenous plants of Lebanon for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 93, 1-7.
20. Barreto, H. M., Filho, E. C. S, Lima, E. de O., Coutinho, H. D.M., Morais-Braga, M. F.B., Tavares, C.C.A., Tintino, S.R., Rego, J. V., A.P.L. de Abreu, M. do Caarmo, Gomez Lustosa, Oliveira, R.W.G., Cito, A.M.G.L., Lopes, J.A.D., (2014). Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotic therapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L.. *Industrial Crops and Products*, 59, 290-294.
21. Begum, J., Bhuiyan, M. N. I., Chowdhury, J. U., Hoque, M. N., Anwar, M. N. (2008). Antimicrobial activity of essential oil from seeds of *Carum carvi* and its composition. *Bangladesh Journal of Microbiology*, 25(2), 85-89.
22. Berghofer, L. K., Hocking, A. D., Miskelly, D., Jansson, E. (2003). Microbiology of wheat and flour milling in Australia. *International Journal of Food Microbiology*, 85(1-2), 137-149.
23. Beuchat, L. R., Hocking, A. D. (1990). Some Considerations When Analysing Foods for the Presence of Xerophilic Fungi. *Journal of Food Protection*, 11, 948-989.
24. Birck, N. M. M., Lorini, I., Scussel, V. M. (2006). Fungus and mycotoxins in wheat grain at post harvest. Proceedings 9th international working conference on stored product protection, Passo Fundo, Brazil, 198-205.
25. Bočarov-Stančić, A. S., Lević, J., Stanković, S. Ž., Krnjaja, V., Kovačević, T. M., Tančić, S. L. (2007). The toxigenic potential of *Fusarium poae* originated from wheat. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, (113), 113-123.
26. Bočarov-Stančić, A. S., Lević, J., Stanković, S. Ž., Tančić, S. L., Krnjaja, V., Salma, N. (2008). Toxigenic potential of *Fusarium langsethiae* isolates from Serbian wheat kernels. *Cereal Research Communications*, 36(6), 345-346.

- 27. Bočarov-Stančić, A., Lević, J., Stanković, S., Stanišić, M. M., Bilek, S. O. (2009).** Dynamics of deoxynivalenol and zearalenone production by *Fusarium graminearum* under laboratory conditions. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, 116, 15-24.
- 28. Bomfim, N. da S., Nakassugi, L. P., Oliveira, J. F. P., Kohiyama, C.Y., Mossini S. A. G, Grespan, R., Nerilo S.B., Mallmann, C. A., Filho, B. A.A., Machinski, Jr. M. (2015).** Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. Food Chemistry, 166, 330-336.
- 29. Bonafaccia, G., Gambelli, L., Fabjan, N., Kreft, I. (2003).** Trace elements in flour and bran from common and tartary buckwheat. Food Chemistry, 83(1), 1-5.
- 30. Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology, 94(3), 223-253.
- 31. Cairns, V., Magan, N. (2003).** Impact of essential oils on growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* and *Aspergillus ochraceus* on a wheat-based substrate. Proceedings of 8th International Working Conference on Stored Product Protection, York, UK, 479-485.
- 32. Cakić, N. (2012).** Alkaloidi, fenilpropanoidi, steroidi i terpenoidi iz odabranih biljnih vrsta familije *Apiaceae*. Doktorska disertacija. Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet.
- 33. Carmo, E. S., de Oliviera Lima, E., de Souza, E. L. (2008).** The potential of *Origanum vulgare* L. (*Lamiaceae*) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *Aspergillus* species. Brazilian Journal of Microbiology, 39, 362-367.
- 34. Carns-Fuller, V. (2004).** Dynamics and control of ochratoxigenic strains of *Penicillium verrucosum* and *Aspergillus ochraceus* in the stored grain ecosystem. PhD Thesis, Cranfield University, Silsoe, U.K.
- 35. Cauvain S.P., Young L.S. (2005).** Baked Products: Science, Technology and Practice. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, UK.
- 36. Ceylan, E., Fung, D. Y. C. (2004).** Antimicrobial activity of spices. Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology, 12, 1-55.

- 37. Cheeseborough, M. (2005).** Identification of bacteria laboratory manual for tropical countries, Vol II, Butterworth and Co. Publishers London, UK, 63-69.
- 38. Cole, R. J. (1980).** Tremorgenic mycotoxins: an update. Antinutrients and Natural Toxins in Foods, Food and Nutrition Press: Westport, Connecticut, USA, 17-37.
- 39. Cole, R. J. (1981).** Fungal Tremorgens. Journal of food protection, 44(9), 715-722.
- 40. Conkova, E., Laciakova, A. N. N. A., Styriak, I., Czerwiecki, L. U. D. W. I. K., Wilczynska, G. (2006).** Fungal contamination and the levels of mycotoxins (DON and OTA) in cereal samples from Poland and East Slovakia. Czech Journal of Food Science, 24(1), 33-40.
- 41. Croteau, R., Kutchan, T. M., Lewis, N. G. (2000).** Natural products (secondary metabolites). Biochemistry and Molecular Biology of Plants, 24, 1250-1319.
- 42. da Cruz Cabral, L., Fernandez Pinto, V., Patriarca, A. (2013).** Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. International Journal of Food Microbiology, 166, 1-14.
- 43. Daferera, D. J., Ziogas, B. N., Polissiou, M. G. (2003).** The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Crop Protection, 22(1), 39-44.
- 44. Davis, E. M., Ringer, K. L., McConkey, M. E., Croteau, R. (2005).** Monoterpene metabolism. Cloning, expression, and characterization of menthone reductases from peppermint. Plant physiology, 137(3), 873-881.
- 45. Decker, E. A. (1995).** The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine and pyroloquinoline quinone as nonessential dietary antioxidants. Nutrition Reviews, 53, 49-58.
- 46. Demin, M. (2007).** Uticaj mehaničke obrade zrna na senzorne, dijetalne i nutritivne karakteristike proizvoda mlevenja pšenice. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet –Zemun.
- 47. Demirel, R., Sariozlu, N. Y. (2014).** Mycotoxigenic moulds and mycotoxins in flours consumed in Turkey. Journal of the Science of Food and Agriculture, 94(8), 1577-1584.

- 48. Desjardins, A. E. (2006).** Fusarium mycotoxins: chemistry, genetics, and biology. American Phytopathological Society (APS Press). 260 pp.
- 49. Dey, P. M., Harbone, J. B. (1997).** Plant Biochemistry, Academic Press, San Diego, USA.
- 50. Diener, U. L., Davis, N. D. (1967).** Limiting temperature and relative humidity for growth and production of aflatoxin and free fatty acids by *Aspergillus flavus* in sterile peanuts. Journal of the American Oil Chemists' Society, 44, 259-263.
- 51. Dimić, G. (1999).** Mikološki i mikotoksikološki aspekti pojave plesni u začinima. Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
- 52. Dimić, G., Kocić-Tanackov, S., Karalić, D. (2007).** Occurrence of toxigenic *Penicillium* spp. in spices. Proceedings I International Congress on Food Technology, Quality and Safety, Novi Sad, Srbija, 87-93.
- 53. Dimić, G., Maletić, Ž., Kocić-Tanackov, S. (2005).** Xerotolerant mycopopulations and mycotoxins in muesli components. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, 109, 81-87.
- 54. Dimić, G., Dimić, E., Kocić-Tanackov, S., Maletić, Ž. (2006).** Mikološka ispitivanja semena tikve golice (*Cucurbita pepo* L) i jezgra suncokreta (*Helianthus annuus* L) kao komponenta musli proizvoda. Uljarstvo, 37, 1-2.
- 55. Dimitrijević, D., Piletić, M. Milić, B. (1987).** Organska hemija I deo, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
- 56. Domsch, K. H., Gams, W., Anderson, T. H. (1980).** Compendium of Soil Fungi. Volume 1. Academic Press Ltd., London, UK.
- 57. Doolotkeldieva, T. D. (2010).** Microbiological control of flour-manufacture: dissemination of mycotoxins producing fungi in cereal products. Microbiology insights, 3, MBI-S3822.
- 58. Dorman, H. J. D., Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal Applied Microbiology, 88, 308-316.

- 59. Dorner, J. W., Cole, R. J., Hill, R. A. (1984).** Tremorgenic mycotoxins produced by *Aspergillus fumigatus* and *Penicillium crustosum* isolated from molded corn implicated in a natural intoxication of cattle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(2), 411-413.
- 60. dos Santos, J. P., Mantovani, E. C. (1997).** Grain losses in maize culture; pre-harvest, harvest, transport and storage. *Embrapa Milho e Sorgo-Circular Técnica (INFOTECA-E)* 24, 1-40.
- 61. Duraković, S., Duraković, L. (2003).** Mikologija u biotehnologiji. Kugler, Zagreb.
- 62. Duraković, S., Galić, J., Pajnović, P. (1989).** Toksični i karcinogeni metaboliti gljiva u namirnicama i krmivima. *Hrana i ishrana*, 2, 71-100.
- 63. Ettlinger, M.G., Kjaer, A. (1968).** Sulphur compounds in plants. In Mabry, T.J.(Ed.), *Recent Advances in Phytochemistry*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, Netherlands, 59-144.
- 64. Evans, H. C. (1971).** Thermophilous fungi of coal spoil tips: II. Occurrence, distribution and temperature relationships. *Transactions of the British Mycological Society*, 57(2), 255-266.
- 65. Farag, R. S., Daw, Z. Y., Abo-Raya, S. H. (1989).** Influences of some spice essential oils on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in synthetic medium. *Journal of Food Science*, 54, 74-76.
- 66. Ferdeş, M., Ungureanu, C. (2012).** Antimicrobial activity of essential oils against four food-borne fungal strains. *University Politehnica of Bucharest Scientific Bulletin*, 74(2), 8/-98.
- 67. Filtenborg, O., Frisvad, J.C., Samson, A. R. (2004).** Specific association of fungal to foods and influence of physical environmental factors. In: *Introduction to food-borne fungi* (Samson, R.A., van Reen-Hoekstra, E.S., eds.), Centraal Bureau voor Schimmelcultures, Baarn-Delft, The Netherlands, 306-320.
- 68. Flamini, G., Cioni, P. L., Morelli, I., Macchia, M., Ceccarini, L. (2002).** Main agronomic- productive characteristics of two ecotypes of *Rosmarinus officinalis* L. and



chemical composition of their essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(12), 3512-3517.

**69. Fleurat-Lessard, F. (2002).** Qualitative reasoning and integrated management of the quality of stored grain: a promising new approach. *Journal of Stored Products Research*, 38(3), 191-218.

**70. Fox, M. E., Howlett, J. B. (2008).** Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology. *Current Opinion Microbiology*, 11, 481-487.

**71. Freire, F. D. C. O., Kozakiewicz, Z. (2005).** Filamentous fungi, bacteria and yeasts associated with cashew kernels in Brazil. *Revista Ciência Agronômica*, 36(2), 249-254.

**72. Frisvad, J. C. (1995).** Mycotoxins and mycotoxigenic fungi in storage. In: *Stored grain ecosystems*, (Jayas, D. S., White, N. D. G. and Muir, W. E., ed.), Marcel Dekker, New York, USA, 251-258.

**73. Frisvad, J.C., Thrane, U., Samson, R.A., Pitt, J.I. (2006a).** Important mycotoxins and the fungi which produce them. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 571, 3-31.

**74. Gqaleni, N., Smith, J. E., Lasey, J., Gettinby, G. (1997).** Effect of temperature, water activity and incubation time on production of aflatoxin and cyclopiazonic acid by an isolate of *Aspergillus flavus* in surface agar culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(3), 1048-1053.

**75. Gonçalves da Rosa, C., Zapelini de Melo, A.P., Sganzerla, W.G., Machado, M.H., Nunes, M.R., de Oliveira Brisola Maciel, M.V., Bertoldi, F.C. Manique Barreto, P.L. (2020).** Application in situ of zein nanocapsules loaded with *Origanum vulgare* Linneus and *Thymus vulgaris* as a preservative in bread. *Food Hydrocolloids*, 99, 105339.

**76. Grahovac, M., Indić, D., Lazić, S., Vuković, S. (2009).** Biofungicidi i mogućnosti primene u savremenoj poljoprivredi. *Pesticides Fitomedic*, 24(4), 245-258.

**77. Griffin, S. G., Markham, J. L., Leach, D. N. (2000).** An agar dilution method for the determination of the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 12(2), 249-255.

- 78. Guynot, M. E., Sanchis, V., Ramos, A. J., Marin, S. (2003).** Mold-free shelf-life extension of bakery products by active packaging. *Journal of Food Science*, 68(8), 2547-2552.
- 79. Gömöri, C. S., Nacsá-Farkas, E., Kerekes, E. B., Vidács, A., Bencsik, O., Kocsubé, S., Khaled, J., Alharbi, N., Vágvölgyi, Cs., Krisch, J. (2018).** Effect of essential oil vapours on aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus*. *World Mycotoxin Journal*, 11(4), 1–10.
- 80. Halt, M., Klapac, T., Subaric, D., Macura, M., Bacani, S. (2004).** Fungal contamination of cookies and the raw materials for their production in Croatia. *Czech Journal of Food Sciences-UZPI*, 22, 95-98.
- 81. Hardy, G. (2000).** Nutraceuticals and functional foods: introduction and meaning. *Nutrition*, 16(7-8), 688-689.
- 82. Hasan, S. (1997).** Methods to extend the mold free shelf life of pizza crusts. MSc thesis, McGill University, Montreal, QC, Canada.
- 83. Hashem, M., Alamri, S. (2010).** Contamination of common spices in Saudi Arabia markets with potential mycotoxin-producing fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 17(2), 167-175.
- 84. Hocking, A. D. (1988).** Moulds and yeasts associated with foods of reduced water activity: ecological interactions. *Food Preservation by Moisture Control*. Elsevier Applied Science, London, 57–72.
- 85. Hocking, A. D. (2003).** Microbiological facts and fictions in grain storage. *Proceedings of the Australian postharvest technical conference*, Canberra, Australia, 55-58.
- 86. Horbowicz, M., Obendorf, R. L. (1992).** Changes in sterols and fatty acids of buckwheat endosperm and embryo during seed development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(5), 745-750.
- 87.** [https://www.savjetodavna.hr/wp-content/uploads/2013/10/kombajn3\\_10\\_10-1.jpg](https://www.savjetodavna.hr/wp-content/uploads/2013/10/kombajn3_10_10-1.jpg)
- 88. Hui, Y. H., Corke, H., De Leyn, I., Nip, W. K., Cross, N. (2006).** Bakery products. *Science and technology*, 2. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK.

- 89. IFICF (2009).** International Food Information Council Foundation Food & Health Survey, Washington, USA.
- 90. Im, J. S., Huff, H. E., Hsieh, F. H. (2003).** Effects of processing conditions on the physical and chemical properties of buckwheat grit cakes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 659-666.
- 91. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (1980).** Factors Affecting Life and Death of Microorganisms: Microorganisms in Foods 3 (Vol. 1). Academic Press, New York, USA.
- 92. ISO 4120:2004.** Sensory analysis – Methodology – Triangle test.
- 93. ISO 6658:2005.** Sensory analysis – Methodology – General guidance.
- 94. ISO 8589:2007.** Sensory analysis – General guidance for the design of test rooms
- 95. Jay, J. M., Loessner, M. J., Golden, D. A. (2008).** *Modern Food Microbiology*. Springer Science & Business Media, New York, USA.
- 96. Jarvis, B. (2001).** Mould spoilage of food. *Process Biochemistry*, 7,11-14.
- 97. Jeftić, S. (1986).** *Kukuruz*. Naučna knjiga, Beograd.
- 98. Jeftić, S., Šuput, M., Gotlin, J., Pucarić, A., Miletić, N., Klimov, S., Đorđevski, J., Španring, J., Vasilevski, G. (1986).** *Posebno ratarstvo 1*. Naučna knjiga, Beograd.
- 99. Jespersen, L., Halm, M., Kpodo, K., Jakobsen, M. (1994).** Significance of yeasts and moulds occurring in maize dough fermentation for 'kenkey' production. *International Journal of Food Microbiology*, 24(1-2), 239-248.
- 100. Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y. J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C. J., Zu, Y.G., Liu, X. L. (2011).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32(1), 63-68.
- 101. Joffe, A. Z. (1962).** Biological properties of some toxic fungi isolated from overwintered cereals. *Mycopathologia*, 16(3), 201-221.

- 102. Joshaghani, H., Namjoo, M., Rostami, M., Kohsar, F., Niknejad, F. (2013).** Mycoflora of fungal contamination in wheat storage (silos) in Golestan Province, North of Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6(4).
- 103. Ju, J., Chen, X., Xie, Y., Yu, H., Cheng, Y., Qian, H., Yao, W. (2019).** Simple microencapsulation of plant essential oil in porous starch granules: Adsorption kinetics and antibacterial activity evaluation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(10), e14156.
- 104. Kalemba, D., Kunicka, A. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 813-829.
- 105. Kasum, C. M., Jacobs Jr, D. R., Nicodemus, K., Folsom, A. R. (2002).** Dietary risk factors for upper aerodigestive tract cancers. *International Journal of Cancer*, 99(2), 267-272.
- 106. Kazemi, M., Rostami, H., Shafiei, S. (2012).** Antibacterial and antifungal activity of some medicinal plants from Iran. *Journal of Plant Sciences*, 7(2), 55-66.
- 107. Karakašević, B., Bandur, B., Banič, S., Bezjak, V., Dobardžić, R., Drndarski, K., Đurišić, M., Janković-Brmbolić, A., Karakašević, B., Kragujević, M., Levi-Jovović, E., Likar, M., Mršević, S., Richter, B., Sretenović, M., Stefkov, S., Terzin, A., Weisglass, H. (1977).** *Mikrobiologija i parazitologija, Medicinska knjiga Beograd-Zagreb.*
- 108. Kedia, A., Prakash, B., Mishra, P. K., Dubey, N. K. (2014).** Antifungal and antiaflatoxic properties of *Cuminum cyminum* (L.) seed essential oil and its efficacy as a preservative in stored commodities. *International journal of food microbiology*, 168, 1-7.
- 109. Kljusurić, S. (2000).** *Uvod u tehnologiju mljevenja pšenice. Sveučilišta Josip Juraj Strossmayer, Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek, Hrvatska.*
- 110. Krisch, J., Rentskenhand, T., Horváth, G. Csaba Vágvölgyi, Cs. (2013).** Activity of essential oils in vapor phase against bread spoilage fungi. *Acta Biologica Szegediensis*, 57(1), 9-12.

- 111. Knobloch, K., Pauli, A., Iberl, B., Weis, N., Weigand, H. (1988).** Mode of action of essential oil components on whole cells of bacteria and fungi in plate tests. *Bioflavour*, 87, Walter de Gruyther, Berlin, Germany, 287-299.
- 112. Kocić-Tanackov, S. D., Dimić, G. R., Karalić, D. (2007).** Contamination of spices with moulds potential producers of sterigmatocystine. *Acta Periodica Technologica*, (38), 29-35.
- 113. Kocić-Tanackov, S. (2004).** Rast toksigenih *Fusarium* vrsta i sinteza zearalenona u ječmu namenjenom proizvodnji pivskog slada. Magistarska teza, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
- 114. Kocić-Tanackov, S., Škrinjar, M. (2004).** Udeo toksigenih *Fusarium* vrsta u mikopopulacijama izolovanim iz ozimog dvoredog ječma. *Žito-Hleb*, 1(2), 35-41.
- 115. Kocić-Tanackov, S. (2012).** Uticaj ekstrakata začina na rast plesni i biosintezu mikotoksina. Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
- 116. Kocić-Tanackov, S., Dimić, G. (2013).** Gljive i mikotoksini-kontaminanti hrane. *Hemijska industrija*, 67, 4, 639-653.
- 117. Kocić-Tanackov, S., Blagojev, N., Suturović, I., Dimić, G., Pejin, J., Tomović, V., Šojić, B., Savanović, J., Kravić, S., Karabasil, N. (2017a).** Antibacterial activity essential oils against *Escherichia coli*, *Salmonella enteric* and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Safety and Food Quality (Archiv für Lebensmittelhygiene)*, 68, 88-95.
- 118. Kocić-Tanackov, S., Dimić, G., Mojović, L., Gvozdanović-Varga, J., Djukić-Vuković, A., Tomović, V., Šojić, B., Pejin, J. (2017b).** Antifungal activity of the onion (*Allium cepa* L.) essential oil against *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species isolated from food. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(4), 1-10
- 119. Kocić-Tanackov, S., Dimić, G., Jakšić, S., Mojović, Lj., Djukić-Vuković, A., Mladenović, D., Pejin, J. (2019).** Effects of caraway and juniper essential oils on aflatoxigenic fungi growth and aflatoxins secretion in polenta. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43, e 14224.
- 120. Kocić-Tanackov, S., Dimić, G., Đerić, N., Mojović, L., Tomović, V., Šojić, B., Đukić-Vuković, A., Pejin, J. (2020).** Growth control of molds isolated from smoked fermented

sausages using basil and caraway essential oils, *in vitro* and *in vivo*. *LWT - Food Science and Technology*, 123, 109095.

**121. Kocić-Tanackov, S., Dimić, G., Mojović, L., Pejin, J. (2021).** Role of Mycotoxins in Human Food and Inhibition of Their Producers by Plant-Derived Products. In: Cifuentes, A. (Ed.), *Comprehensive Foodomics*, vol. 3. Elsevier, 62–86.

**122. Koh-Banerjee, P., Franz, M., Sampson, L., Liu, S., Jacobs, D.R., Spiegelman, D., Willett, W., Rimm, E. (2004).** Changes in whole-grain, bran, and cereal fiber consumption in relation to 8-y weight gain among men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(5), 1237-1245.

**123. Kolawole, R. M., Thomas, B. T., Adekunle, A. A., Oluwadun, A. F. O. L. A. B. I. (2013).** Postharvest pathogenic fungi of wheat circulating in Lagos State, Nigeria. *American Journal of Research Communication*, 1, 421-428.

**124. Korir, K., Bii, C. (2012).** Mycological quality of maize flour from aflatoxins “hot” zone eastern province—Kenya”. *African Journal of Health Sciences*, 21(3-4), 143-146.

**125. Kostić, I., Marković, T., Krnjajić, S. (2012).** Sekretorne strukture aromatičnih biljaka sa posebnim osvrtom na strukture sa etarskim uljima, mesta sinteze ulja i njihove važnije funkcije. *Lekovite sirovine*, 32, 3-25.

**126. Kosiak, B., Torp, M., Skjerve, E., Andersen, B. (2004).** *Alternaria* and *Fusarium* in Norwegian grains of reduced quality—a matched pair sample study. *International Journal of Food Microbiology*, 93(1), 51-62.

**127. Kراسić, V. (2003).** Određivanje mikotoksina u začinima primenom ELISA testa, Specijalistički rad, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.

**128. Krkošková, B., Mrázová, Z. (2005).** Prophylactic components of buckwheat. *Food Research International*, 38(5), 561-568.

**129. Kruger, C. L., Mann, S. W. (2003).** Safety evaluation of functional ingredients. *Food and chemical toxicology*, 41(6), 793-805.

- 130. Kurita, N., Miyaji, M., Kurane, R., Takahara, Y. Ichimra, K. (1979).** Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compounds from oils of higher plants. *Agricultural and Biology Chemistry*, 45, 2365-2371.
- 131. Kwak, N. S., Jukes, D. J. (2001).** Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. *Food Control*, 12(2), 99-107.
- 132. Laribi, B., Kouki, K., Bettaieb, T., Mougou, A., Marzouk, B. (2013).** Essential oils and fatty acids composition of Tunisian, German and Egyptian caraway (*Carum carvi* L.) seed ecotypes: A comparative study. *Industrial Crops and Products*, 41, 312-318.
- 133. Larsen, T. O., Frisvad, J. C. (1995a).** Characterization of volatile metabolites from 47 *Penicillium* taxa. *Mycological Research*, 99, 1153-1166.
- 134. Larsen, T. O., Frisvad, J. C. (1995b).** Chemosystematics of *Penicillium* based on profiles of volatile metabolites. *Mycological Research*, 99, 1167-1174.
- 135. Lazzari, F. A. (1997).** Moisture, fungi and mycotoxins as seeds, grains and feed, 2. Edition, Curitiba, Brazil, 148 p.
- 136. Lawless, H. T., Heymann, H. (2013).** Sensory evaluation of food: principles and practices. Springer Science & Business Media, New York, USA.
- 137. Leslie, F.J., Summerell, A.B. (2006).** The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing, Iowa, USA.
- 138. Lević, J., Stanković, S., Bočarov-Stančić, A., Škrinjar, M., Mašić, Z. (2004).** The overview on toxigenic fungi and mycotoxins in Serbia and Montenegro. In An overview on toxigenic fungi and mycotoxins in Europe, Springer, Dordrecht, 201-218.
- 139. Lević, J., Stanković, S., Krnjaja, V., Bočarov-Stančić, A., Ivanović, D. (2012).** Distribution frequency and incidence of seed-borne pathogens of some cereals and industrial crops in Serbia. *Pesticidi i fitomedicina*, 27(1), 33-40.
- 140. Lević, T.J. (2008).** Vrste roda *Fusarium*. Institut za kukuruz "Zemun Polje" i društvo genetičara Srbije, Cicero, Beograd.

- 141. Li, S. Q., Zhang, Q. H. (2001).** Advances in the development of functional foods from buckwheat. *Critical reviews in food science and nutrition*, 41(6), 451-464.
- 142. Liu, R. H. (2007).** Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 207-219.
- 143. Ljubisavljević, M. (1999).** Zrnasti proizvodi. Velarta, Beograd.
- 144. Lončar B. (2015).** Hemometrijski pristup analizi osmotske dehidracije srebrnog karaša (*Carassius gibelio*), doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
- 145. Lucini, E. I., Zunino, M. P., Lopez, M. L., Zygodlo, J. A. (2006).** Effect of monoterpenes on lipid composition and sclerotial development of *Sclerotium cepivorum* Berk. *Journal of Phytopathology*, 154, 441-446.
- 146. Lugauskas, A., Raila, A., Railienė, M., Raudonienė, V. (2006).** Toxic micromycetes in grain raw material during its processing. *Annals of Agricultural And Environmental Medicine*, 13, 147-161.
- 147. Maffei, M., Camusso, W., Sacco, S. (2001).** Effect of *Mentha piperita* essential oil and monoterpenes on cucumber root membrane potential. *Phytochemistry*, 58(5), 703-707.
- 148. Magan, N. & Aldred, D. (2007).** Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. *International Journal of Food Microbiology*, 119, 131-139.
- 149. Magan, N., Sanchis, V., Aldred, D. (2004).** Role of spoilage fungi in seed deterioration. Chapter 28, In: *Fungal Biotechnology in Agricultural, Food and Environmental Applications* (D.K.Aurora, ed.). Marcell Dekker. pp. 311-323.
- 150. Mahboubi, M., Kazempour, N. (2014).** Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 36(1), 83-87.
- 151. Mahmoud, M. A., Al-Othman, M. R., Abd El-Aziz, A. R. M. A. (2013).** Mycotoxigenic fungi contaminating corn and sorghum grains in Saudi Arabia. *Pakistan Journal of Botany*, 45(5), 1831-1839.



- 152. Maletić, Ž. (2005).** Kserofilne mikopopulacije i proizvođači mikotoksina u musliju i komponentama. Specijalistički rad, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
- 153. Maltini, E., Torreggiani, D., Venir, E., Bertolo, G. (2003).** Water activity and the preservation of plant foods. *Food Chemistry*, 82(1), 79-86.
- 154. Marković T. (2011).** Etarska ulja i njihova bezbedna primena, Institut za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“, Beograd, Srbija.
- 155. Marcello, J. A., Mizer, H. E, Granato, P. A. (2003).** Laboratory manual and workbook in Microbiology: Application to patient care, 7<sup>th</sup> edition, McGraw- Hill, New York, USA, 98.
- 156. Matsuzaki, Y., Tsujisawa, T., Nishihara, T., Nakamura, M., Kakinoki, Y. (2013).** Antifungal activity of chemotype essential oils from rosemary against *Candida albicans*. *Open Journal of Stomatology*, 3, 176-182.
- 157. Meyer, K. A., Kushi, L. H., Jacobs Jr, D. R., Slavin, J., Sellers, T. A., Folsom, A. R. (2000).** Carbohydrates, dietary fiber, and incident type 2 diabetes in older women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(4), 921-930.
- 158. Miletić, I., Šobajić, S., Đorđević, B. (2008).** Functional foods and their role in the improvement of health status. *Journal of Medical Biochemistry*, 27(3), 367-370.
- 159. Miller, J. D. (1995).** Fungi and mycotoxins in grain: implications for stored product research. *Journal of Stored Products Research*, 31(1), 1-16.
- 160. Mills, S.Y. (2003).** The scientific foundation for herbal medicinal products. 2nd Edition, European Scientific Cooperative on Phytotherapy, Exeter, UK. .
- 161. Mimica-Dukić, N., Kujundžić, S., Soković, M., Couladis, M. (2003).** Essential oil composition and antifungal activity of *Foeniculum vulgare* Mill. obtained by different distillation conditions. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 17(4), 368-371.
- 162. Mišan, A., Arsić, I., Đorđević, S., Tadić, V., Psodorov, Đ. (2013).** Funkcionalna hrana i lekovito bilje. Naučni institut za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, Novi Sad.

- 163. Mislivec, P. B., Tuite, J. (1970).** Temperature and relative humidity requirements of species of *Penicillium* isolated from yellow dent corn kernels. *Mycologia*, 62(1), 75-88.
- 164. Moghtader, M. (2013).** *In vitro* antifungal effects of the essential oil of *Mentha piperita* L. and its comparison with synthetic menthol on *Aspergillus niger*. *African Journal of Plant Science*, 7(11), 521-527.
- 165. Moghtader, M., Afzali, D. (2009).** Study of the antimicrobial properties of the essential oil of Rosemary. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 5(3), 393-397.
- 166. Moghtader, M., Salari, H., Farahm, A. (2011).** Evaluation of the antifungal effects of rosemary oil and comparison with synthetic borneol and fungicide on the growth of *Aspergillus flavus*. *Journal of Ecology and the Natural Environment*, 3(6), 210-214.
- 167. Montville, T., Matthews, K. (2005).** *Food Microbiology: An Introduction*, 7th ed., ASM Press, Washington, USA, 241–261.
- 168. Moreau, C. (1980).** Le *Penicillium roqueforti*, morphologie, physiologie, intérêt en industrie fromagère, mycotoxines.(Révision bibliographique). *Le lait*, 60, 254-271.
- 169. Mousavi, S. M., Raftos, D. (2012).** *In vitro* antifungal activity of a new combination of Essential oils against some filamentous Fungi. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 11(2), 156-161.
- 170. Muir, J. G. (1993).** Resistant starch: the neglected dietary fiber? Implications for health. *Dietary fiber and weight regulation*, 1, 33-47.
- 171. Muñtanjola-Cvetković, M. (1990).** Opšta mikologija. Naučna knjiga, Beograd.
- 172. Murray, M. J. (1972).** Genetic observations on *Mentha* oil biogenesis. *Annals of The Brazilian Academy of Sciences*, 44, 24-30.
- 173. Muthomi, J. W., Mureithi, B. K., Chemining'wa, G. N., Gathumbi, J. K., Mutit, E. W. (2012).** *Aspergillus* species and Aflatoxin B1 in soil, maize grain and flour samples from semi-arid and humid regions of Kenya. *International Journal of AgriScience*, 2(1), 22-34.

- 174. Naigre, R., Kalck, P., Roques, C., Roux, I., Michel, G. (1996).** Comparison of antimicrobial properties monoterpenes and their carbonylated products. *Planta Medica*, 62, 275-277.
- 175. National Research Council (1989).** Recommended dietary allowances. National Academies Press, Washington, USA.
- 176. Nielsen, P. V., Rios, R. (2000).** Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. *International Journal of Food Microbiology*, 60 (2-3), 219-229.
- 177. Nieto, G. (2017).** Biological Activities of Three Essential Oils of the *Lamiaceae* Family. *Medicines*, 4, 63, 4-10.
- 178. Nikolić, M., Glamočlija, J., Ćirić, A., Marković, T., Marković, D., Perić, T., Soković, M. (2013).** Hemijski sastav i antimikrobna aktivnost etarskog ulja pitome nane (*Mentha piperita* L.). *Lekovite sirovine*, (33), 63-72.
- 179. Niness, K. R. (1999).** Inulin and oligofructose: what are they? *The Journal of nutrition*, 129(7), 1402-1406.
- 180. Noots, I., Delcour, A. J., Michiels, C. W. (1999).** From field barley to malt: Detection and specification of microbial activity for quality aspects. *Critical Reviews in Microbiology*, 25(2), 121-153.
- 181. Nowak, A., Kalemba, D., Krala, L., Piotrowska, M., Czyzowska, A. (2012).** The effects of thyme (*Thymus vulgaris*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils on *Brochothrix thermosphacta* and on the shelf life of beef packaged in high-oxygen modified atmosphere. *Food Microbiology*, 32(1), 212-216.
- 182. Ntuli, V., Mekbib, S. B., Asita, A. O., Molebatsi, N., Makotoko, M., Chatanga, P. (2013).** Microbial and physicochemical characterization of maize and wheat flour from a milling company, Lesotho. *International Journal of Food Safety*, 15, 11-19.
- 183. Nursten, H. E. (1970).** Volatile compounds: the aroma of fruits. *Biochemistry of Fruits and Their Products*, 1, 239-268.

- 184. Odhiambo, B. O., Murage, H., Wagara, I. N. (2013).** Isolation and characterisation of aflatoxigenic *Aspergillus* species from maize and soil samples from selected counties of Kenya. *African Journal of Microbiology Research*, 7, 34, 4379-4388.
- 185. Ogundare, A. O., Adetuyi, F. C. (2003).** Studies on the microbial population of bread baked with wheat flour from south western Nigeria. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 1, 85-87.
- 186. Oliveira, P. M., Zannini, E., Arendt, E. K. (2014).** Cereal fungal infection, mycotoxins, and lactic acid bacteria mediated bioprotection: From crop framning to cereal products. *Food Microbiology*, 37, 78-95.
- 187. Otoni, C. G., Pontes, S.F., Medeiros E.A. Soares, N.D.F. (2014).** Edible films from methylcellulose and nanoemulsions of clove bud (*Syzygium aromaticum*) and oregano (*Origanum vulgare*) essential oils as shelf life extenders for sliced bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 5214–5219.
- 188. Özcan, M. M., Chalchat, J. C. (2008).** Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(7-8), 691-698.
- 189. Panaccione, D. G., Coyle, C. M. (2005).** Abundant respirable ergot alkaloids from the common airborne fungus *Aspergillus fumigatus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(6), 3106-3111.
- 190. Panasenko, V. T. (1967).** Ecology of microfungi. *The botanical review*, 33(3), 189-215.
- 191. Patterson, M., Damoglou, A. P. (1986).** The effect of water activity and pH on the production of mycotoxins by fungi growing on a bread analogue. *Letters in Applied Microbiology*, 3(6), 123-125.
- 192. Pestorić, M. (2011).** Razvoj i vrednovanje senzorskih i instrumentalnih metoda za ocjenu teksturnih svojstava tjestenine. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.

- 193. Petersson, S., Schnürer, J. (1995).** Biocontrol of mold growth in high-moisture wheat stored under airtight conditions by *Pichia anomala*, *Pichia guilliermondii*, and *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(3), 1027-1032.
- 194. Petrović, D., Ignjatov, M., Vujaković, M., Taški-Ajduković, K., Nikolić, Z., Milošević, M., Jovičić, D. (2010).** Mikopopulacija semena kukuruza (2006-2008). *Field & Vegetable Crops Research/Ratarstvo i povrtarstvo*, 47(2), 561-566.
- 195. Piletić, M. V., Milić, B. Lj. (1989).** Organska hemija III deo. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- 196. Pinto, E., Goncavels, M. J., Hrimpeng, K., Pinto, J., Vaz, S., Vale-Silva, L. A., Cavaleiro, C., Salgueiro, L. (2013).** Antifungal activity of the essential oil of *Thymus villosus* subsp. *lusitanicus* against *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Industrial Crops and Products*, 51, 93-99.
- 197. Pitt, J. I., Hocking, A. D. (1997).** Fungi and food spoilage 2<sup>nd</sup>, Ed., Blackie Academic and Professional, London, UK.
- 198. Pitt, J. I., Hocking, A. D. (2009).** Fungi and food spoilage, Springer (Vol. 519), New York, USA.
- 199. Pitt, J. I., Ail, S., Hocking, B. F., Le, M. C., Kapti, R. K., Endang, S., Rahayu, S. (1998).** The mycoflora of food commodities from. *Journal of Food Mycology*, 1(1), 41-60.
- 200. Pitt, J. I., Hocking, A. D., Bhudhasamai, K., Miscamble, B. F., Wheeler, K. A., Tanboon-Ek, P. (1993).** The normal mycoflora of commodities from Thailand. 1. Nuts and oilseeds. *International Journal of Food Microbiology*, 20(4), 211-226.
- 201. Pitt, J. I., Hocking, A. D., Bhudhasamai, K., Miscamble, B. F., Wheeler, K. A., Tanboon-Ek, P. (1994).** The normal mycoflora of commodities from Thailand. 2. Beans, rice, small grains and other commodities. *International Journal of Food Microbiology*, 23(1), 35-53.
- 202. Perišić Janjić, N. (1987).** Opšta hemija, Naučna Knjiga Beograd, Beograd.
- 203. Plavšić D. (2015).** Fungalna kontaminacija brašna od žitarica I kontrola fungalnog rasta etarskim uljima. Specijalistički rad. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.

- 204. Plavšić, D., Dimić, G., Psodorov, Đ., Šarić, L., Mandić, A., Čabarkapa, I., Jovanov, P. (2016).** Presence of a potentially toxigenic *Aspergillus* species in wheat flour. *Proceedings of the 8th International Congress Flour-Bread'15, 10th Croatian Congress of Cereal Technologists*, Opatija, Croatia, 248-254.
- 205. Plavšić, D., Sakač, M., Čabarkapa, I., Šarić, Lj., Psodorov, Đ. (2007).** Mikrobiološka ispravnost pšeničnog brašna. *Žito-hleb* 34, 5-6, 83-90.
- 206. Plavšić, D., Škrinjar, M., Psodorov, Đ., Pezo, L., Milovanović, I., Psodorov, D., Kojić, P. Kocić-Tanackov, S. (2020.)** Chemical structure components and antifungal activity of mint essential oil. *Journal of Serbian Chemical Society*, 85(9), 1149-1161.
- 207. Prakash, B., Singh, P., Kedia, A., Dubey, N. K. (2012).** Assessment of some essential oils as food preservatives based on antifungal, antiaflatoxin, antioxidant activities and *in vivo* efficacy in food system. *Food Research International*, 49(1), 201-208.
- 208. Prakash, B., Kedia, A., Singh, A., Yadav, S., Singh, A., Deepika, A. Y., Dubey, N. K. (2016).** Antifungal, antiaflatoxin and antioxidant activity of plant essential oils and their *in vivo* efficacy in protection of chickpea seeds. *Journal of Food Quality*, 39, 36-44.
- 209. Prashar, A., Hili, P., Veness, R. G., Evans, C. S. (2003).** Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytochemistry*, 63(5), 569-575.
- 210. Psodorov, Đ. Vukić, M. (2010).** Poslastičarstvo i pekarstvo 1 i 2. Visoka hotelijerska škola strukovnih studija, Beograd, Srbija.
- 211. Psodorov, Đ Psodorov, D. (2014).** Tehnologija pekarstva i poslastičarstva. Mlinpek zavod, Novi Sad, Srbija.
- 212. Psodorov, D. (2019).** Uticaj ambalaže i savremenih uslova pakovanja na održivost tradicionalnih pekarskih proizvoda. Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
- 213. Pundir, R. K., Jain, P. (2011).** Qualitative and quantitative analysis of microflora of Indian bakery products. *Journal of Agricultural Technology*, 7(3), 751-762.

- 214. Raccach, M. (1984).** The antimicrobial activity of phenolic antioxidants in foods, A review. *Journal of Food Safety*, 6, 141-170.
- 215. Rasooli, R. A. (2004).** Inhibitory effect of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food Control*, 15, 479-483.
- 216. Rezazadeh, A., Pirzeh, L., Hosseini, M., Razavieh, S. V. (2013).** Evaluation of fungal contaminations and humidity percent of consumed flour in the bakeries of Tabriz city. *Journal of Clinical Research in Paramedical Sciences*, 4(4).
- 217. Riba, A., Mokrane, S., Mathieu, F., Lebrihi, A., Sabaou, N. (2008).** Mycoflora and ochratoxin A producing strains of *Aspergillus* in Algerian wheat. *International Journal of Food Microbiology*, 122(1-2), 85-92.
- 218. Rinsky, G., Rinsky, L. H. (2008).** The pastry chef's companion: a comprehensive resource guide for the baking and pastry professional, John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, USA.
- 219. Robertfroid M. B. (2001).** Defining Functional Foods. In *Functional Foods-concept to products*. Ed. G. R. Gibson i C. M. Williams, CRC Press, Cambridge, UK.
- 220. Rohloff, J. (1999).** Monoterpene composition of essential oil from peppermint (*Mentha piperita* L.) with regard to leaf position using solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(9), 3782-3786.
- 221. Roige, M. B., Aranguren, S. M., Riccio, M. B., Pereyra, S., Soraci, A. L., Tapia, M. O. (2009).** Mycobiota and mycotoxins in fermented feed, wheat grains and corn grains in Southeastern Buenos Aires Province, Argentina. *Revista iberoamericana de micología*, 26(4), 233-237.
- 222. Ruiz, B., Flotats, X. (2014).** Citrus essential oils and their influence on the anaerobic digestion process: An overview. *Waste management*, 34(11), 2063-2079.
- 223. Sabater-Vilar, M., Kuilman-Wahls, M.E.M., Fink-Gremmels, J. (2003b).** Inhibition of aflatoxin B1 mutagenicity by cyclopiazonic acid in the presence of human liver preparations. *Toxicology Letters*, 143, 291-299.

- 224. Sabater-Vilar, M., Nijmeijer, S., Fink-Gremmels, J. (2003a).** Genotoxicity assessment of five tremorgenic mycotoxins (fumitremorgen B, paxilline, penitrem A, verruculogen, and verrucosidin) produced by molds isolated from fermented meats. *Journal of Food Protection*, 66(11), 2123-2129.
- 225. Sakač, M., Sedej, I., Mandić, A., Mišan, A. (2012).** Heljda-sirovina za proizvodnju funkcionalne hrane. Univerzitet u Novom Sadu, Naučni institut za prehrambene tehnologije u Novom Sadu.
- 226. Saladino, F., Quiles, J. M., Luciano, F. B., Manes, J., Fernandez-Franzon M., Meca, G. (2017).** Shelf life improvement of the loaf bread using allyl, phenyl and benzyl isothiocyanates against *Aspergillus parasiticus*. *LWT - Food Science and Technology*, 78, 208-214.
- 227. S.H. Salim-ur-Rehman, S. H., Nawaz, H. (2007).** Inhibitory effect of citrus peel essential oils on the microbial growth of bread. *Pakistan Journal of Nutrition*, 6(6), 558-561.
- 228. Službeni glasnik RS (2018).** Pravilnik o kvalitetu žita, mlinskih i pekarskih proizvoda i testenina 68/2016 i 56/2018.
- 229. Službeni list SFRJ (1988).** Pravilnik o metodama fizickih i hemijskih analiza za kontrolu kvaliteta žita, mlinskih i pekarskih proizvoda, testenina i brzo smrznutih testa 74/1988-
- 230. Samson, R. A., Frisvad, J., C. (2004).** *Penicillium* subgenus *Penicillium*: new taxonomic schemes, mycotoxins and other extrolites. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
- 231. Samson, R. A., Hoekstra, E. S., Frisvad, J. C. (2004).** *Introduction to food-and airborne fungi* (No.Ed. 7). Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.
- 232. Santos, J. D. (2002).** Métodos preventivos de controle de pragas de grãos armazenados. Armazenagem de grãos, Instituto Bio Geneziz, Campinas, Brazil, 399-441.
- 233. Schneider, R. (1954).** Untersuchungen über Feuchtigkeitsansprüche parasitischer Pilze. *Phytopathology Z*, 21, 63-78.



- 234. Scudamore, K. A. (2005).** Identifying Mycotoxins is Paramount in the fight against their spread. *Word Grain*, 23, 36-39.
- 235. Sedej, I. (2011).** Funkcionalna i antioksidativna svojstva novih proizvoda od heljde, Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
- 236. Seiler, D.A.L. (2000).** Modified atmosphere packaging of bakery products. In: *Controlled/ Modified Atmosphere/Vacuum Packaging of Foods* (ed A.L. Brody). Food and Nutrition Press, Trumbull, Connecticut, USA, 119-133.
- 237. Sendanyoye, M. (2018).** Use of essential oils as new food preservatives (Case: *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus crebra*). *Journal of Plant Science and Phytopathology*, 2, 83-90.
- 238. Shiju, M. (2010).** A review on the effect of fungi on the wheat grain under post harvest storage ecology. *Food and Environment Safety – Journal of Faculty of Food Engineering, Stefan cel Mare University-Suceava Year IX, No 2*
- 239. Shuey, W. C. (1960).** A wheat sizing technique for predicting flour milling yield. *Cereal Sciences Today*, 5(71), 71-72.
- 240. Sikkema, J., de Bont, J. A., Poolman, B. (1994).** Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *Journal of biological Chemistry*, 269(11), 8022-8028.
- 241. Simpanya, M. F., Allotey, J., Mpuchane, S. (2001).** Insect and mycoflora interactions in maize flour. *African Journal of Food and Nutritional Sciences*, 1, 3-8.
- 242. Sinovec, J. Z., Resanović, M. R., Sinovec, M. S. (2006).** Mikotoksini: pojava, efekti i prevencija. Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine.
- 243. Skendi, A., Katsantonis, D., Chatzopoulou, P., Irakli, M. Papageorgiou, M. (2020).** Antifungal Activity of Aromatic Plants of the Lamiaceae Family in Bread. *Foods* 9, 1642, 1-14.
- 244. Smith, J. P. (1993).** Bakery products. In *Principles and Application of Modified Atmosphere Packaging of Food*. R. T. Parry (Ed.) Glasgow, U.K.: Blackie Academic and Professional, 134-169.

- 245. Smith, J. P., Daifas, D. P., El-Khoury, W., Koukoutsis, J., El-Khoury, A. (2004).** Shelf life and safety concerns of bakery products—a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44(1), 19-55.
- 246. Smtth, J. P., Simpson, B. K. (1995).** Modified atmosphere packaging of bakery and pasta products. In *Principles of Modified-atmosphere and sous vide Product Packaging*, J. M. Farber and K. Dodds (Eds.), Technomic Publications, Lancaster, PA, USA.
- 247. Soković, M. D., Vukojević, J., Marin, P. D., Brkić, D. D., Vajs, V., Van Griensven, L. J. (2009).** Chemical composition of essential oilsof thymus and mentha speciesand their antifungal activities. *Molecules*, 14(1), 238-249.
- 248. Soković, M., Glamočlija, J., Ćirić, A., Kataranovski, D., Marin, P. D., Vukojević, J., Brkić, D. (2012).** Antifungal activity of the essential oils and components in vitro and in vivo on experimentally induced dermatomycoses at rats. *Digest Journal of Nanomaterials Biostructures*, 7(3), 959-966.
- 249. Soldevilla, C., Vazquez, C., Patino, B., Jurado, M., Gonzalez-Jaen, M.T. (2005).** Toxicogenic fungi associated to wheats and barleys of Castilla and Leon. *Boletin de Sanidad Vegetal Plagas*, 31, 519–529.
- 250. Spicher, G. (1980).** Die faktoren des wachstums der schimmelpilze als ansatzpunkte für massnahmen zur unterbindung der schimmelbildung bei backwaren. *Getreide, Mehl Brot* 34, 128–137.
- 251. SRPS EN ISO 8586:2015.** Sensory analysis – General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors.
- 252. SRPS ISO 11036:2002.** Senzorske analize – Metodologija – Profil teksture.
- 253. SRPS ISO 11037:2013.** Senzorske analize – Uputstva za senzorsko ocenjivanje boje proizvoda.
- 254. SRPS ISO 21527-2:2011.** Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95.

- 255. SRPS ISO 3972:2011.** Senzorske analize –Metodologija – Metoda utvrđivanja osetljivosti čula ukusa.
- 256. SRPS ISO 5496:2014.** Senzorske analize-Metodologija-Upućivanje i obučavanje ocenjivača za otkrivanje i prepoznavanje mirisa.
- 257. Stanković, S. Ž., Lević, J., Petrović, T., Krnjaja, V. (2008).** Toxicological profile of *F-proliferatum* isolated from maize seed, root and stalk. *Cereal Research Communications*, 36, 397-398.
- 258. Stanković, S. Ž., Tančić, S. L., Lević, J., Krnjaja, V. (2008).** Production of deoxinivalenol by *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum* isolated from wheat kernels in Serbia. *Cereal Research Communications*, 36, 395-396.
- 259. Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Van Sinderen, D. (2005).** Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current opinion in biotechnology*, 16(2), 198-203.
- 260. STATISTICA** (Data Analysis Software System), version 12.StatSoft, Inc, Tulsa, OK, USA (2013) ([www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)).
- 261. Steadman, K. J., Burgoon, M. S., Lewis, B. A., Edwardson, S. E., Obendorf, R. L. (2001a).** Buckwheat seed milling fractions: description, macronutrient composition and dietary fibre. *Journal of Cereal Science*, 33(3), 271-278.
- 262. Steadman, K. J., Burgoon, M. S., Lewis, B. A., Edwardson, S. E., Obendorf, R. L. (2001b).** Minerals, phytic acid, tannin and rutin in buckwheat seed milling fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(11), 1094-1100.
- 263. Stević, T. (2013).** Komparativna analiza agenasa za biološku kontrolu patogenih gljiva izolovanih sa lekovitih biljaka. *Lekovite sirovine*, 33, 119-131.
- 264. Stewart, D. (2005).** The chemistry of essential oils made sample: God's love manifest in molecules/by David Stewart, N A P S A C Reproductions, Marble Hill, Misuri,USA.
- 265. Stojanović, T., Psodorov, Đ. (2007).** Savremena tehnologija žita, brašna i hleba. Visoka poljoprivredno prehrambena škola, Prokuplje.

266. **Stone, H. Sidel, J.L. (2004).** Introduction to sensory evaluation. Sensory Evaluation Practices (Third Edition). Academic Press, San Diego, 1–19.
267. **Szumny, A., Figiel, A., Gutiérrez-Ortíz, A., Carbonell-Barrachina, Á. A. (2010).** Composition of rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis*) as affected by drying method. Journal of Food engineering, 97(2), 253-260.
268. **Šarić, Lj., Čabarkapa, I., Šarić, B., Plavšić, D., Lević, J., Pavkov, S., Kokić, B. (2014).** Composition and antimicrobial activity of some essential oils from Serbia, Agro Food Industry Hi Tech, 25(1), 40-43.
269. **Škrinjar, M. Tešanović, D. (2007).** Hrana u ugostiteljstvu i njeno čuvanje. Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet.
270. **Škrinjar, M., Jocković, Đ., Matijević, Z., Kocić Tanackov, S. (2013).** Aflatoksini u žitaricama i proizvodima na bazi žitarica–pojava, uticaj na ljudsko zdravlje, zakonska regulativa. Zbornik referata, Savetovanje agronoma Srbije, Zlatibor, 47, 27-33.
271. **Škrinjar, M., Kolarević, I., Dimić, G., Jovanović, O. (2000).** Occurrence of moulds and some mycotoxins in raw materials used in confectionary. Žito hleb, 27(1),9-14.
272. **Škrobot, D. (2016).** Senzorski, nutritivni i funkcionalni profil integralne testenine sa dodatkom heljdinog brašna. Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
273. **Šoronja-Simović, D., Pajin, B., Šubarić, D., Dokić, Lj., Šereš, Z. Nikolić, I. (2017).** Quality, sensory and nutritional characteristics of cookies fortified with chestnut flour. Journal of Food Processing and Preservation 41, 1-9.
274. **Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., Cliver, D. O. (2010).** Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control, 21, 1199-1218.
275. **Takayama, C., de-Faria, F. M., de Almeida, A. C. A., Dunder, R. J., Manzo, L. P., Socca, E. A. R., MariaBatista, L., Salvador, M. J., MonteiroSouza-Brito, R., Luiz-Ferreira, A. (2016).** Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* essential oil and antioxidant action against gastric damage induced by absolute ethanol in the rat. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 6(8), 677-681.

- 276. Tančić, S., Stanković, S., Lević, J. (2009).** Variability of pathogenicity of *Fusarium* spp. originating from maize and wheat grains. *Pesticidi i fitomedicina*, 24(4), 259-269.
- 277. Tarek, N., Hassan, H. M., AbdelGhani, S. M., Radwan, I. A., Hammouda, O., El-Gendy, A. O. (2014).** Comparative chemical and antimicrobial study of nine essential oils obtained from medicinal plants growing in Egypt. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(2), 149-156.
- 278. Terzi, V., Tumino, G., Stanca, A. M., Morcia, C. (2014).** Reducing the incidence of cereal head infection and mycotoxins in small grain cereal species. *Journal of Cereal Science*, 59(3), 284-293.
- 279. Thien, L. B., Heimermann, W. H., Holman, R. T. (1975).** Floral odors and quantitative taxonomy of *Magnolia* and *Liriodendron*. *Taxon*, 24(5-6), 557-568.
- 280. Thomas, B. T., Effedua, H. I., Agu, G., Musa, O. S., Adeyemi, M. T., Odunsi, O. D., Adesoga, K.O., Ogundero, O. Oluwadun, A. (2012).** Fungi associated with the deterioration of garri (a traditional fermented cassava product) in Ogun State, Nigeria. *Researcher*, 4(2), 1-5.
- 281. Tindale, C. R., Whitfield, F. B., Levingston, S. D., Nguyen, T. H. L. (1989).** Fungi isolated from packaging materials: their role in the production of 2,4,6-trichloroanisole. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 49, 437-447.
- 282. Trowell, H., Burkitt, D. (1986).** Physiological role of dietary fiber: a ten-year review. *ASDC Journal of Dentistry for Children*, 53(6), 444-447.
- 283. Tsiraki, M. I., El-Obeid, T., Yehia, H. M., Karam, L., Savvaidis, I. N. (2018).** Effects of Chitosan and Natamycin on Vacuum-Packaged Phyllo: A Pastry Product. *Journal of Food Protection*, 81(12), 1982-1987.
- 284. Tsiraki, M. I., Karam, L., Abiad, M. G., Yehia, H. M., Savvaidis, I. N. (2017).** Use of natural antimicrobials to improve the quality characteristics of fresh "Phyllo"—A dough-based wheat product—shelf life assessment. *Food Microbiology*, 62, 153-159.

- 285. Tyagi, A. K., Malik, A. (2011).** Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. *Food Control*, 22(11), 1707-1714.
- 286. Uribe, S., Ramirez, J., Peña, A. (1985).** Effects of beta-pinene on yeast membrane functions. *Journal of bacteriology*, 161(3), 1195-1200.
- 287. van Egmond, H. P., Speijers, G. J. A., Wouters, R. B. M. (1991).** Naturally Occuring Toxicants in Foodstuffs. 1. Micotoxins. *Microbiologieet Hygiene Alimentarie*, 3(7), 40-43.
- 288. Vasileva, I., Denkova, R., Chochkov, R., Teneva, D., Denkova, Z., Dessev, T., Denev, P., Slavov, A. (2018).** Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) and melissa (*Melissa officinalis*) waste on quality and shelf life of bread. *Food Chemistry*, 253, 13–21.
- 289. Vukojević, J., Ljaljević-Grbić, M., Karan, D., Janković, V. (2008).** Moulds and mycotoxins in spices, *Proceedings 6th Congress of Medical Microbiologists, MIKROMED, Belgrade*, 333–334.
- 290. Wang, Y., Fengi, K., Yang, H., Zhang, Z., Yuan, Y., Yue, T. (2018).** Effect of cinnamaldehyde and citral combination on transcriptional profile, growth, oxidative damage and patulin biosynthesis of *Penicillium expansum*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1–13.
- 2901. Wei, Y. M., Zhang, G. Q., Li, Z. X. (1995).** Study on nutritive and physico-chemical properties of buckwheat flour. *Food/Nahrung*, 39(1), 48-54.
- 292. Weidenbörner, M., Kunz, B. (1993).** The mycoflora of stored cereal grains. *Mededelingen van de Faculteit landbouwwetenschappen. Rijksuniversiteit Gent*, 58(3b), 1185-1191.
- 293. Weidenbörner, M., Kunz, B. (1994).** Contamination of different muesli components by fungi. *Mycological Research*, 98(5), 583-586.
- 294. Weidenbörner, M., Wieczorek, C., Appel, S., Kunz, B. (2000).** Whole wheat and white wheat flour—the mycobiota and potential mycotoxins. *Food Microbiology*, 17(1), 103-107.

- 295. Whitfield, F. B., Nguyer, T. H. L., Last, J. H. (1991).** Effect of relative humidity and chlorophenol content on the fungal conversion of chlorophenols to chloroanisols in fibreboard cartons containing dried fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 54, 595-604.
- 296. Wicklow, D. T. (1995).** The mycology of stored grain: an ecological perspective. *Stored grain ecosystems*, 197-249.
- 297. Williams, A. P. (1990).** *Penicillium* and *Aspergillus* in the food microbiology laboratory. In *Modern Concepts in Penicillium and Aspergillus Classification* (pp. 67-71). Springer, Boston, Massachusetts, USA.
- 298. Wolk, A., Manson, J.E., Stampfer, M.J., Colditz, G.A., Hu, F.B., Speizer, F.E., Hennekens, C.H., Willett, W. C. (1999).** Long-term intake of dietary fiber and decreased risk of coronary heart disease among women. *Jama*, 281(21), 1998-2004.
- 299. Xianfei, X., Xiaoqiang, C., Shunying, Z., Guolin, Z. (2007).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Chaenomeles speciosa* from China. *Food Chemistry*, 100(4), 1312-1315.
- 300. Zabka, M., Pavela, R., Prokinova, E. (2014).** Antifungal activity and chemical composition of twenty essential oils against significant indoor and outdoor toxigenic and aeroallergenic fungi. *Chemosphere*, 112, 443-448.
- 301. Žakula, R. (1980).** Mikrobiologija hrane sa higijenom proizvodnje. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
- 302. Žeželj, M. (1995).** Tehnologija žita i brašna. I deo, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
- 303. Žeželj, M. (2005).** Tehnologija žita i brašna, knjiga II, NIP Glas javnosti doo, Beograd.
- 304. Zhang, H., Chen, F., Wang, X., Yao, H. Y. (2006).** Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Research International*, 39, 833-839.

## PRILOG

### Prilog 1. Sastav mikoloških podloga

#### Prilog 1.1. Dihloran 18% glicerol agar (DG18):

Pepton	5,0 g
Glukoza	10,0 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,0 g
MgSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	0,5 g
Dihloran (0,2% u etanolu)	1,0 ml
Glicerol	220,0 g
Hloramfenikol	0,1 g
Agar	15,0 g
Destilovana voda	1000,0 ml
pH	5,6 ± 0,2

Dodati sve sastojke, osim glicerola, u 800 mL destilovane vode. Zagrevati dok se agar ne rastvori. Dopuniti do 1000 mL sa destilovanom vodom. Dodati glicerol i sterilisati u autoklavu 15 min na 121°C.

#### Prilog 1.2. Sladni ekstrakt kvasac ekstrakt 50% glukoza agar (MY50G):

Ekstrakt slada	10,0 g
Ekstrakt kvasca	2,5 g
Agar	10,0 g
Glukoza	500,0 g
Destilovana voda	do 500,0 ml
pH	5,3 ± 0,2

Dodati sve sastojke, osim glukoze, u 450 mL destilovane vode. Zagrevati dok se agar ne rastvori. Dopuniti destilovanom vodom do 500 mL. Dodati glukozu i sterilisati u autoklavu 15 min na 110°C.

#### Prilog 1.3. Czapek kvasac ekstrakt agar (CYA):

NaNO <sub>3</sub>	3,0 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,0 g
KCl	0,5 g
MgSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	0,5 g



FeSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	0,01 g
Ekstrakt kvasca	5,0 g
Saharoza	30,0 g
Rastvor mikroelementa	1,0 ml
Agar	20,0 g
Destilovana voda	1000,0 ml

Sastav rastvora mikroelemenata:

ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1,0 g
CuSO <sub>4</sub> ×7H <sub>2</sub> O	0,5 g
Destilovanavoda	100,0 ml
pH	6,0 – 6,5

Dodati sve sastojke, osim saharoze, u destilovanu vodu. Zagrevati dok se agar ne rastvori.

Dodati saharozu i sterilisati u autoklavu 15 min na 121°C.

#### **Prilog 1.4. Sladni ekstrakt agar (MEA):**

Ekstraktslada u prahu	20,0 g
Pepton	1,0 g
Glukoza	20,0 g
Agar	20,0 g
Destilovana voda	1000,0 ml
pH	5,6 ± 0,2

Dodati sve sastojke u destilovanu vodu. Zagrevati dok se agar ne rastvori. Sterilisati u autoklavu 15 min na 121°C.

#### **Prilog 1.5. Krompir dekstrozni agar (PDA):**

Ekstrakt krompira	200,0 g
Dekstroza	20,0 g
Agar	15,0 g
Destilovana voda	1000,0 ml
pH	5,6±0,2

Dodati sve sastojke u destilovanu vodu. Zagrevati dok se agar ne rastvori. Sterilisati u autoklavu 15 min na 121°C.

#### **Prilog 1.6. Sabouraud dekstrozni agar (SDA):**

Mikološki pepton	10,0 g
ekstroza	40,0 g

Agar	15,0 g
Destilovana voda	1000,0 ml
pH	5,6±0,2

Dodati sve sastojke u destilovanu vodu. Zagrevati dok se agar ne rastvori. Sterilisati u autoklavu 15 min na 121°C.

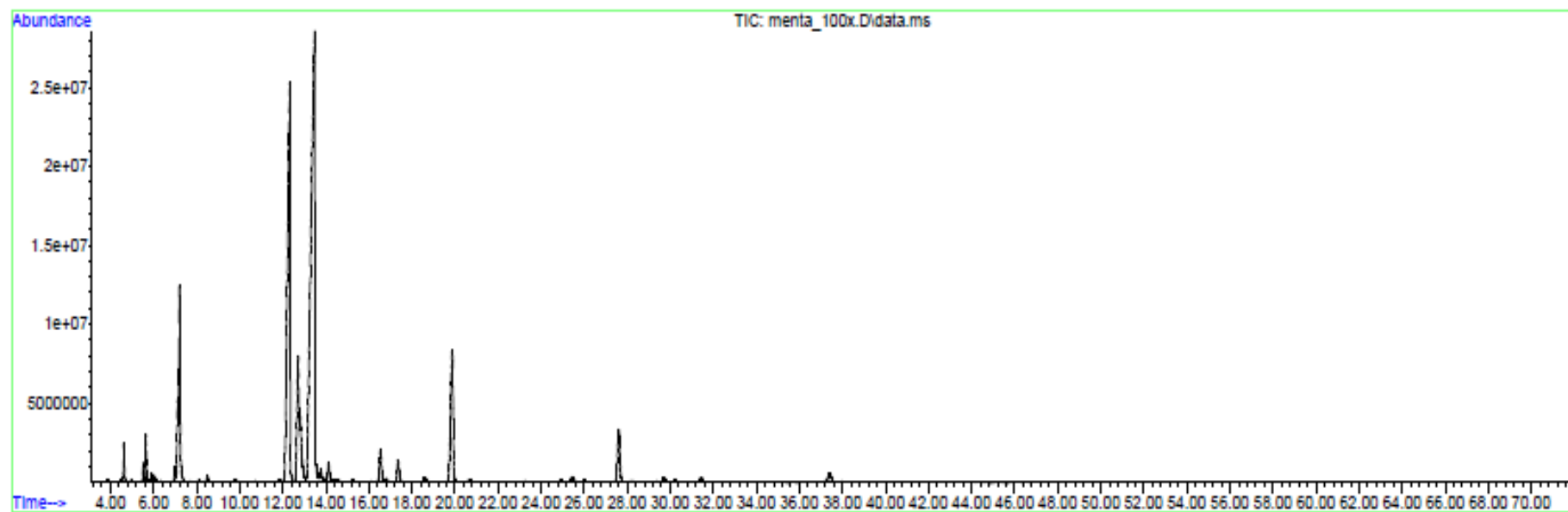
**Prilog 1.7. Sabouraud dekstrozni bujon (SDB):**

Specijalni pepton	10,0 g
Dekstroza	20,0 g
Destilovana voda	1000,0 ml
pH	5,6±0,2

Dodati sve sastojke u destilovanu vodu. Zagrevati dok se agar ne rastvori. Sterilisati u autoklavu 15 min na 121°C.

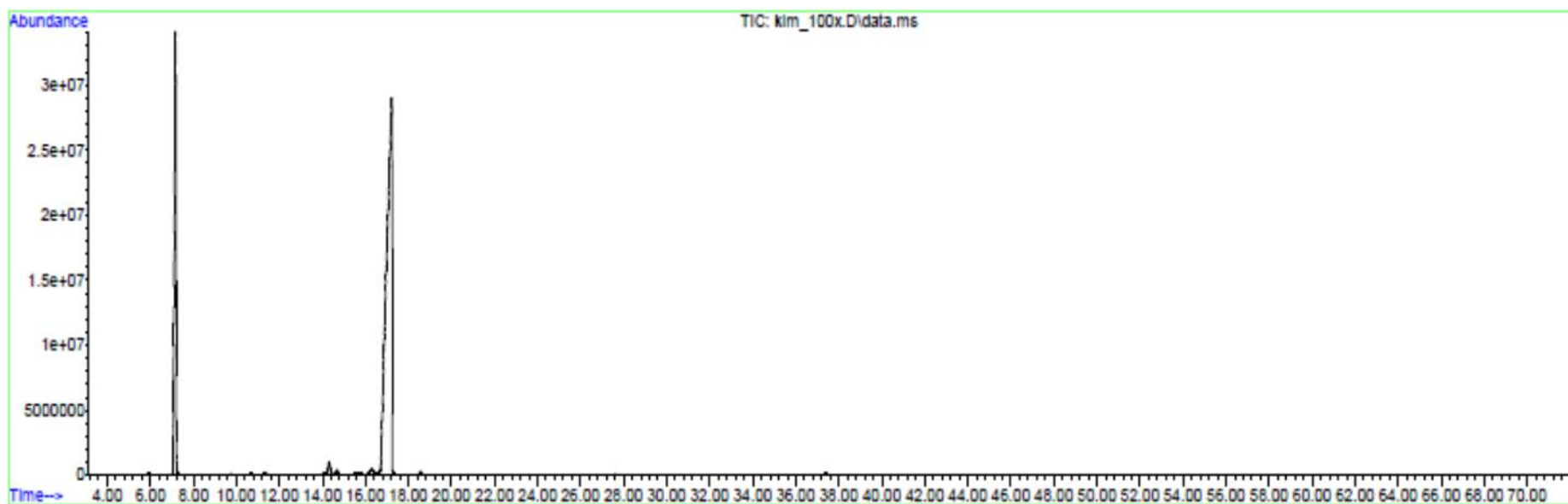
**Prilog 2. Gasni hromatogram etarskog ulja mente (*Mentha piperita* L.)**

File :D:\Etarska ulja\28.04.2017\menta\_100x.D  
Operator :  
Acquired : 24 Feb 2015 10:34 using AcqMethod ETARSKA\_STARA.M  
Instrument : 5975C  
Sample Name: menta 100x  
Misc Info : menta\_100x  
Vial Number: 7



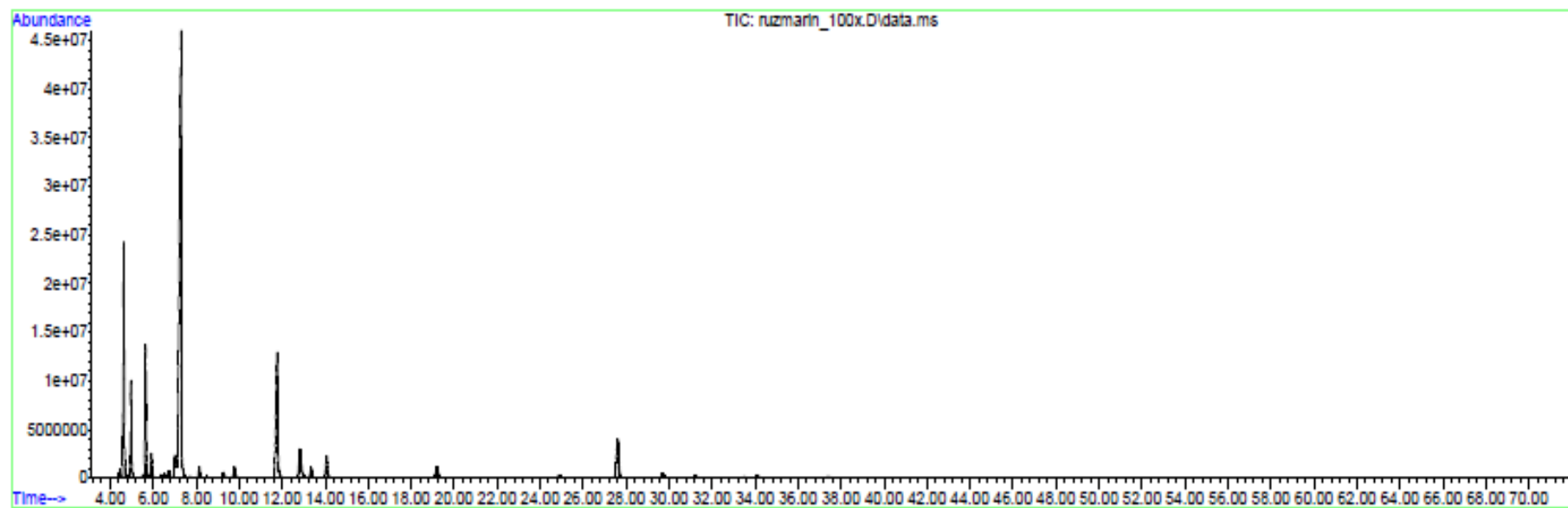
### Prilog 3. Gasni hromatogram etarskog ulja kima (*Carum carvi* L.)

File :D:\Etarska ulja\28.04.2017\kim\_100x.D  
Operator :  
Acquired : 24 Feb 2015 9:45 using AcqMethod ETARSKA\_STARA.M  
Instrument : 5975C  
Sample Name: kim 100x  
Disc Info : kim\_100x  
Vial Number: 8



**Prilog 4. Gasni hromatogram etarskog ulja ruzmarina (*Rosmarinus officinalis* L.)**

File :D:\Etarska ulja\28.04.2017\ruzmarin\_100x.D  
Operator :  
Acquired : 24 Feb 2015 10:19 using AcqMethod ETARSKA\_STARA.M  
Instrument : 5975C  
Sample Name: ruzmarin 100x  
Misc Info : ruzmarin\_100x  
Vial Number: 6



## План третмана података

<b>Назив пројекта/истраживања</b>
Одрживост пекарског производа са повишеним садржајем влаге са додатком лековитог и зачинског биља
<b>Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање</b>
а) Научни институт за прехранбене технологије у Новом Саду, Универзитет у Новом Саду, Република Србија
<b>Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање</b>
Истраживања обухваћена овом докторском дисертацијом финансирана су од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, кроз пројекат „ Функционални производи на бази жита намењени особама са метаболичким поремећајима“, евиденциони број пројекта ТР 31029.
<b>1. Опис података</b>
<p>1.1 Врста студије</p> <p><i>Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају</i></p> <p>Докторска дисертација</p> <p>1.2 Врсте података</p> <p><b>а)</b> квантитативни</p> <p><b>б)</b> квалитативни</p> <p>1.3. Начин прикупљања података</p> <p>а) анкете, упитници, тестови</p> <p>б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи</p> <p>в) генотипови: навести врсту _____</p> <p>г) административни подаци: навести врсту _____</p> <p>д) узорци ткива: навести врсту: жита, брашна, тестане коре</p> <p>ђ) снимци, фотографије: навести врсту: фотографије изолата плесни, узорака тестаних кора</p>

е) текст, навести врсту: литературни наводи

ж) мапа, навести врсту \_\_\_\_\_

з) остало: описати web садржај

### 1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

#### 1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

**а)** Excel фајл, датотека : .xlsx

б) SPSS фајл, датотека \_\_\_\_\_

с) PDF фајл, датотека \_\_\_\_\_

**д)** Текстфајл, датотека: .doc.x

**е)** JPG фајл, датотека: jpg,.tif

ф) Остало, датотека \_\_\_\_\_

#### 1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

а) број варијабли: велики број

б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.) : велики број

#### 1.3.3. Поновљена мерења

**а)** да

б) не

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) временски размак између поновљених мера је између неколико минута и неколико дана

- б) варијабле које се више пута мере односе се на експерименталне анализе  
в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као

Напомене: \_\_\_\_\_

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

**а) Да**

**б) Не**

*Ако је одговор не, образложити* \_\_\_\_\_

## 2. Прикупљање података

### 2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

#### 2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

а) експеримент, навести тип биолошке, физичке, хемијске, инструменталне, сензорске анализе

б) корелационо истраживање, навести тип \_\_\_\_\_

ц) анализа текста, навести тип тумачење експериментално добијених резултата, извођење закључака и поређење са литературним подацима

д) остало, навести шта \_\_\_\_\_

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

Хемијски састав етарских уља – Гасни хроматограф – Agilent 5975C GC-MSD

Обрада података статистички софтвер – Statistika 12.StatSoft

### 2.2 Квалитет података и стандарди



### 2.2.1. Третман недостајућих података

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

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) Колики је број недостајућих података? \_\_\_\_\_

б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да  
Не

в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података  
\_\_\_\_\_

### 2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Квалитет података контролисан је применом различитих статистичких метода и понављањем добијених експерименталних резултата.

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

Контрола уноса података у матрицу је извршена упоређивањем добијених података са литературним подацима.

## 3. Третман података и пратећа документација

### 3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у \_\_\_\_\_ репозиторијум.

3.1.2. URL адреса \_\_\_\_\_

3.1.3. DOI \_\_\_\_\_

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

а) Да

б) Да, али после ембарга који ће трајати до \_\_\_\_\_

в) Не

Ако је одговор не, навести разлог \_\_\_\_\_

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

Образложење

\_\_\_\_\_

3.2 Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? \_\_\_\_\_

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

\_\_\_\_\_

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

\_\_\_\_\_

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

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

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

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

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

**Да Не**

Образложити

---

#### 4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

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

##### 4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности

*([https://www.paragraf.rs/propisi/zakon\\_o\\_zastiti\\_podataka\\_o\\_licnosti.html](https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html))*

и одговарајућег институционалног кодексa о академском интегритету.

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

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

---

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

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

- а) Подаци нису у отвореном приступу  
б) Подаци су анонимизирани  
ц) Остало, навести шта
- 

## 5. Доступност података

### 5.1. Подаци ће бити

**а) јавно доступни**

б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области

ц) затворени

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

---

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

---

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

---

## 6. Улоге и одговорност

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

Драгана Плавшић, dragana.plavsic@fins.uns.ac.rs

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

Драгана Плавшић, dragana.plavsic@fins.uns.ac.rs

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

Драгана Плавшић, dragana.plavsic@fins.uns.ac.rs