

Факултет Пољопривредни

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

32/4-4.1.

(Број захтева)

30.01.2019.

(Датум)

Веће научних области
биотехничких наука

(Назив већа научне области коме се захтев
упућује)

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на одлуку о прихватању теме докторске дисертације и о одређивању ментора

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 186/15-пречишћени текст и 189/16), дате сагласност на одлуку о прихватању теме докторске дисертације:

„Утицај додатка вргања (*Boletus edulis*), лисичарке (*Cantharellus cibarius*) и црне трубе (*Craterellus cornucopioides*) на укупан квалитет барених кобасица у типу франкфуртера“
(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ Прехрамбена технологија

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

1. Саша, Мирослав, Новаковић

2. Претходно образовање (назив и седиште факултета, студијски програм):

Универзитет у Београду

Пољопривредни факултет, Студијски програм
Прехрамбена технологија

3. Година завршетка
претходног нивоа студија: 2015.

4. Година уписа на докторске студије: 2015/2016.

5. Назив студијског програма
докторских студија:

Прехрамбена технологија

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ:

Име и презиме ментора: Игор Томашевић

Звање: ванредни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

- 1.) **Tomasevic I.**, Tomovic V., Milovanovic B., Lorenzo J., Djordjevic V., Karabasil N., Djekic I., (2019): Comparison of a computer vision system vs. traditional colorimeter for color evaluation of meat products with various physical properties. Meat Science. 148: 5-12. (<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.09.015>)
- 2.) **Tomasevic I.**, Dodevska M., Simic M., Raicevic S., Matovic V., Djekic I., (2018): A decade of sulphite control in Serbian meat industry and the effect of HACCP. Food Additives & Contaminants: Part B. 11: 49-53. ([10.1080/19393210.2017.1403492](https://doi.org/10.1080/19393210.2017.1403492))
- 3.) **Tomasevic I.**, Novakovic S., Solowiej B., Zdolec N., Skunca D., Krocko M., Nedomova S., Kolaj R., Aleksiev G., Djekic I., (2018): Consumers' perceptions, attitudes and perceived quality of game meat in ten European countries. Meat Science. 142: 5-13. (<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.016>)
- 4.) **Tomasevic I.**, Dodevska M., Simic M., Raicevic S., Matovic V., Djekic I., (2017): The use and control of nitrites in Serbian meat industry and the influence of mandatory HACCP implementation. Meat Science. 34: 76-78. (<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.07.020>)
- 5.) **Tomasevic I.**, Kuzmanovic J., Andjelkovic A., Saracevic M., Stojanovic M., Djekic I., (2016): The effects of mandatory HACCP implementation on microbiological indicators of process hygiene in meat processing and retail establishments in Serbia. Meat Science. 114: 54-57. (<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.12.008>)

Обавештавамо вас да је Наставно-научно веће Пољопривредног факултета

на седници одржаној 30.01.2019. размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Душан Живковић

- Прилог
1. Одлука Наставно-научног већа о прихватању теме и одређивању ментора
 2. Извештај Комисије

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 32/4-4.1.
Датум: 30.01.2019. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 44. Статута Пољопривредног факултета (2018. година), Наставно-научно веће факултета на седници одржаној 30.01.2019. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени пријаве теме докторске дисертације коју је поднео **САША НОВАКОВИЋ, мастер** и одобрава израда дисертације под насловом: **«УТИЦАЈ ДОДАТКА ВРГАЊА (*Boletus edulis*), ЛИСИЧАРКЕ (*Cantharellus cibarius*) И ЦРНЕ ТРУБЕ (*Craterellus cornucopioides*) НА УКУПАН КВАЛИТЕТ БАРЕНИХ КОБАСИЦА У ТИПУ ФРАНКФУРТЕРА».**

II За ментора се именује др Игор Томашевић, ванредни професор.

III На одлуку о прихватању теме докторске дисертације и одређивању ментора сагласност даје одговарајуће Веће научних области Универзитета у Београду.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Душан Живковић)

Доставити: кандидату, ментору, Институту за прехранбену технологију и биохемију, Студентској служби и архиви.

НАСТАВНО – НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

Датум: 27.12.2018. године

Предмет: Извештај Комисије за оцену пријаве теме докторске дисертације кандидата Саше Новаковић

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду број 430/3-3.1. од 26.12.2018. године, именовани смо у Комисију за оцену научне заснованости докторске дисертације под насловом:

„Утицај додатка вргања (*Boletus edulis*), лисичарке (*Cantharellus cibarius*) и црне трубе (*Craterellus cornucopioides*) на укупан квалитет барених кобасица у типу франкфуртера“ кандидата Саше Новаковић.

Комисија у саставу др Игор Томашевић, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Душан Живковић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду и др Владимир Томовић, ванредни професор Технолошког факултета Нови Сад, Универзитета у Новом Саду, после разматрања пријаве подноси следећи:

ИЗВЕШТАЈ

1. Наслов докторске дисертације

Чланови Комисије сагласни су да наслов докторске дисертације **„Утицај додатка вргања (*Boletus edulis*), лисичарке (*Cantharellus cibarius*) и црне трубе (*Craterellus cornucopioides*) на укупан квалитет барених кобасица у типу франкфуртера“** одговара предложеном програму.

2. Предмет и програм истраживања

Познато је да један од најчешће коришћених производа од меса јесте фино уситњена барена кобасица у типу франкфуртера, што због свог укуса, што због приступачне цене и уштеде времена приликом начина припреме. Према Правилнику о квалитету уситњеног меса, полупроизвода од меса и производа од меса (Службени гласник РС, 104/2014 и 94/2015) франкфуртер је производ од меса добијен од меса и масног ткива свиње, производа од крви и додатака као што су со, соли за саламурење, вода, зачини, екстракти зачина, шећери, адитиви, ароме дима и природне ароме. Надев франкфуртера пуни се у танко црево од овце или у вештачке омотаче одговарајућег пречника. У франкфуртеру садржај протеина меса мора да је најмање 11 % и садржај колагена у протеинима меса највише до 20 %.

Оксидација липида одавно је препозната као један од главних проблема који узрокује негативан утицај на квалитет и рок трајања производа од меса – доводи до

развоја непријатног, ужеглог мириса, дисколорације и кварења мяса и производа од мяса (Pil-Nam et al., 2015). Стога, расте заинтересованост у превенцији оксидативних процеса у месу и производима од мяса, како применом комерцијалних, тако и природних антиоксиданаса (Deda et al., 2007). Са друге стране, синтетички антиоксиданси имају високу цену коштања и могући лош утицај на боју и укус финалног производа. Стога, јавља се нови тренд употребе антиоксиданаса из природних извора који привлачи пажњу како потрошача, тако и произвођача мяса и месних прерађевина. У ту сврху пријављено је да гљиве садрже висок степен биолошки активних једињења као што су полифеноли, који су познати као потенцијални антиоксиданси, па би евентуална примена гљива могла у будућности да утиче на смањење коришћења синтетичких антиоксиданаса у индустрији мяса (Zhang et al., 2013). У другим истраживањима пријављено је да гљиве садрже висок степен активних компонената које утичу на укус финалног производа, као што су: мононатријум глутаминат, 5'- гуанозин монофосфат и слободне аминокиселине које доприносе „умами“ укусу, па можемо очекивати да њихов додатак у франкфуртере може допринети побољшању сензорских карактеристика производа (Cho et al., 2010). Такође, у досадашњим испитивањима показано је да додатак гљива у производе од мяса утиче на побољшање укупног квалитета, односно не доводи до промена микробиолошког квалитета, текстуре, боје, а и у значајној мери умањује оксидацију липида, те има позитиван ефекат на сензорске карактеристике производа (Pil-Nam et al., 2015; Ba et al., 2016).

Дакле, познато је да гљиве поседују антиоксидативне и антимикробне карактеристике (Клаус и сар., 2015), а могу и да се додају у производе од мяса у циљу побољшања укупног квалитета (Pil-Nam et al., 2015). Пошто досад није испитиван додатак вргања (*Boletus edulis*), лисичарке (*Cantharellus cibarius*) и црне трубе (*Craterellus cornucopioides*) у производе од мяса, предмет истраживања је да се испита да ли ове гљиве остварују антиоксидативни или антимикробни ефекат „in vitro“, а оне које испоље барем једну позитивну карактеристику, биће додаване у барене кобасице у типу франкфуртера. У франкфуртерима са додатком гљива испитаће се основни хемијски састав, а након тога пратиће се утицај гљиве на укупан квалитет кобасица током складиштења, вршећи мерења и пратећи следеће параметре: рН вредност, укупан садржај фенолних једињења, микробиолошки квалитет, степен оксидације, промене текстуре, промене боје и сензорне карактеристике финалног производа.

3. Научни циљ истраживања

Основни циљ овог истраживања јесте испитивање утицаја додатка вргања (*Boletus edulis*), лисичарке (*Cantharellus cibarius*) и црне трубе (*Craterellus cornucopioides*) на укупан квалитет барених кобасица у типу франкфуртера током складиштења, на првом месту „in vitro“ испитивањем гљива, а затим и праћењем:

- хемијског састава кобасица;
- промене рН вредности кобасица током складиштења;
- садржаја укупних фенола током складиштења;
- степена оксидације кобасица током складиштења;
- микробиолошког квалитета кобасица током складиштења;
- текстуалних својстава кобасица током складиштења;

- промене боје кобасица током складиштења;
- оцене сензорне прихватљивости потрошача током складиштења.

4. Основне хипотезе од којих се полази у истраживању

На основу досадашњих сазнања, полази се од следећих претпоставки:

- Вргањ (*Boletus edulis*), лисичарка (*Cantharellus cibarius*) и црна труба (*Craterellus cornucopioides*) показују антиоксидативна својства „in vitro“;
- Вргањ (*Boletus edulis*), лисичарка (*Cantharellus cibarius*) и црна труба (*Craterellus cornucopioides*) показују антимикуробна својства „in vitro“;
- Додатак одабраних гљива приликом производње франкфуртера неће имати значајан утицај на промене основног хемијског састава кобасица;
- Додатак одабраних гљива приликом производње франкфуртера неће имати значајан утицај на рН вредност кобасица током складиштења;
- Додатак одабраних гљива приликом производње франкфуртера успориће оксидацију липида у кобасицама током складиштења;
- Додатак одабраних гљива приликом производње франкфуртера имаће позитиван утицај на микробиолошки квалитет и безбедност производа током складиштења;
- Додатак одабраних гљива приликом производње франкфуртера неће имати негативан утицај на текстуралне особине кобасица током складиштења;
- Додатак одабраних гљива приликом производње франкфуртера неће имати значајан негативан утицај на боју кобасица;
- Додатак одабраних гљива приликом производње франкфуртера имаће позитиван утицај на сензорне карактеристике кобасице током складиштења;
- Оптимална концентрација гљива која ће се додавати франкфуртерима ради унапређења укупног квалитета неће бити већа од 2,0 %.

5. Материјал и методе које ће се користити у истраживањима

У раду ће се користити три врсте стерилисаног праха гљива:

- 1) Вргањ (*Boletus edulis*);
- 2) Лисичарка (*Cantharellus cibarius*);
- 3) Црна труба (*Craterellus cornucopioides*).

Припрема воденог екстракта гљива

Од праха гљива прво ће се правити декокт гљива. Вода високог степена чистоће и УВ стерилисана (Milli-Q Integral Water Purification System for Ultrapure Water, Merck, Darmstadt) користиће се за испитивање. У циљу добијања воденог екстракта, у односу сушене гљиве и вода (1:10) биће загревање на температуру од 80 °C током једног часа. Добијени водени екстракт биће подвргнут даљим анализама, а у циљу утврђивања антиоксидативних и антимикуробних карактеристика самих гљива.

Антиоксидативне особине: испитивање антиоксидативних особина екстракта гљива „in vitro“ биће урађено методама:

- способност хватања 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl радикала
- редукциона способност
- антиоксидативна активност
- ABTS тест
- CUPRAC тест
- метода избељивања β -каротена

Способност хватања 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl радикала. У првој серији експеримената сваки од спрашених узорака гљива у води мешаће се са раствором 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил DPPH, а у другој серији са раствором DMSO, као што су описали Вундук и сар., (2015). После 40 минута стајања у мраку на 20 °C, спектрофотометријски ће се мерити апсорбанце на 517 nm. Аскорбинска киселина и ВНТ биће коришћени као позитивне контроле. За сваки узорак биће израчуната и EC_{50} вредност која представља ефективну концентрацију екстракта (mg екстракта/mL) при којој се ухвати 50 % DPPH радикала. Ова вредност ће се добити интерполацијом из линеарне регресионе анализе.

Редукциона способност. Сваки од спрашених узорака гљива у води мешаће се са 0,2 М натријум-фосфатним пуфером, рН 6,6, и 1 % калијум ферицијанидом, по поступку који су дали Петровић и сар., (2016). Затим ће се додати 10 % TFA. После центрифугирања горњем слоју ће се додати вода и 0,1 % фери хлорида. Апсорбанца ће се мерити спектрофотометријски на 700 nm. Као позитивна контрола користиће се аскорбинска киселина. Виша вредност апсорбанце указује на вишу редукциону способност. За сваки узорак биће израчуната и EC_{50} вредност која је ефективна концентрација екстракта (mg екстракта/mL) при којој је апсорбанца 0,5.

Антиоксидативна активност. Биће примењена коњуген диенска метода, модификована као код Петровић и сар., (2016), код које се сваки од спрашених узорака гљива у води меша са 10 mM емулзијом линолеинске киселине у 0,2 М натријум фосфатном пуферу, рН 6,5. Tween 20, 6,5 mM, биће додат ради стабилизације емулзије. После 15 сати инкубирања у мраку, на 37 °C, уз стално мешање, биће узет аликуот коме ће се додати апсолутни метанол. После центрифугирања ће се узети супернатант коме ће се мерити апсорбанца спектрофотометријски на 234 nm. Као позитивне контроле користиће се аскорбинска киселина и α -токоферол. За сваки узорак биће израчуната EC_{50} вредност која представља ефективну концентрацију екстракта (mg екстракта/mL) при којој је антиоксидативна активност 50 %.

ABTS тест. ABTS тест биће изведен према методи Петровић и сар., (2016) адаптираној за читач микротитарских плоча са 96 места. Водени екстракт ABTS (5 mL, 3,8 mg/mL) биће измешан са калијум персулфатом (0,088 mL, 38 mg/mL), остављен 16 часова и подешен водом на 734 nm. Водени раствори екстракта (0,02 mL) биће мешани са ABTS раствором и остављени на мрачном месту у трајању од десет минута. Апсорбанца ће бити очитана помоћу читача микротитарских плоча (BioTek ELx808, Winooski, VT, USA) на 734 nm, у односу на слепу пробу (0,02 mL воде и 0,2 mL ABTS раствора). ABTS неутрализација биће изражена као %, користећи следећу једначину:

$$ABTS_n (\%) = \frac{\text{Аслепа проба} - \text{Аузорак}}{\text{Аслепа проба}} \times 100$$

CUPRAC тест. Способност екстракта да редукују бакарни јон биће одређена према методи коју су дали Öztürk et al., (2011). Раствори Cu(II) (10 mM, 0,05 mL), неокупроина (7,5 mM, 0,05 mL), амонијум ацетатног пуфера (1 M, pH 7,0, 0,06 mL) и серијска разређења водених екстракта гљива припремљених у води биће додати у 96 бунарића микротитарске плоче и инкубирани у трајању од једног часа, на температури од 30 °C. Апсорбанца ће бити измерена на читачу микротитарских плоча на 450 nm у односу на слепоу пробу (вода ће бити коришћена уместо узорка).

Одређивање антиоксидативне активности помоћу методе избељивања β-каротена. β-каротен линолеински модел систем (Barros et al., 2007) са модификацијама биће коришћен у циљу испитивања водених екстракта гљива. Да бисмо добили радни раствор β-каротена, 1 mg праха реагенса биће измешан са 5 mL хлороформа и упарен под вакуумом, на 40 °C. Након тога, линолеинска киселина (0,04 g), Tween 80 (0,4 g) и дестилована вода (100 mL) биће додати и енергично мешани на магнетној мешалици. Аликвоти раствора узорка (0,02 mL) биће додати у бунариће микротитарских плоча, а затим и радни раствор β-каротена (0,25 mL). Апсорбанца ће бити мерена одмах, на 450 nm, као и 50 минута након инкубације на температури од 45 °C, у односу на слепоу пробу (вода). Резултати ће бити изражени као % инхибиције оксидације липида:

$$ILP (\%) = \frac{\Delta Ab - \Delta As}{\Delta Ab} \times 100$$

где је ILP инхибиција оксидације липида, ΔAb разлика између апсорбанце слепог пробног мерења одмах након додавања реагенса и након 50 минута од инкубације; ΔAs је разлика апсорбанце екстракта мерена одмах након додавања реагенса и 50 минута након инкубације.

Антимикробна својства: антимикробна својства воденог екстракта гљива испитиваће се помоћу бујон-микродилуционе антимикробне методе.

Бујон-микродилуциони антимикробни метод: Водени екстракт тестираних гљива биће подвргнут микродилуционом тесту у циљу одређивања минималних инхибиторних (MIC) и минималних бактерицидних (MBC) концентрација (Клаус и сар., 2015, CLSI 2005). Антибактеријска активност биће тестирана у односу на три Грам негативне - *Escherichia coli* 25922, *Yersinia enterocolitica* 27729, *Salmonella enteritidis* 13076 и три Грам позитивна соја бактерија - *Listeria monocytogenes* 19115, *Staphylococcus aureus* 25923, *Bacillus cereus* 10876, док ће антифунгицидна активност бити испитана користећи квасце *Candida albicans* 10231 и *Pichia fermentans* 28789. Сви микроорганизми биће пореклом од америчког произвођача култура (ATCC). Ове бактерије и *C. albicans* су познате као патогени и изазивачи квара прехранбених намирница, док је *P. fermentans* предмет интересовања јер се може наћи у млевеном месу.

Припрема воденог екстракта гљива за додавање у франкфуртере:

Један од начина за остваривање пуног потенцијала додавања праха гљива јесте справљање воденог екстракта, који би се припремао на следећи начин: одређена грамажа праха гљиве (у зависности од концентрације) одмериће се и додати у 2 литра кључале дестиловане воде. Ова мешавина држаће се на температури кључања током 60 минута. Вода која испари приликом кувања надоместиће се додатком дестиловане воде, а до укупне

запремине од два литра. Смеша добијена на овакав начин, заједно са талогом гљива, биће изливена у месарску лодну, охлађена и замрзнута у циљу добијања леда, који ће се користити приликом производње франкфуртера. Оглед ће бити поновљен у трипликату, што значи да за сваку концентрацију идентичне гљиве радиће се три производне шарже, тако да ће се за сваку појединачну шаржу добијати по 2 килограма леда (25%). На крају, биће направљене три производне шарже контролног узорка, који ће уместо воденог екстракта гљиве имати по 2 литра кључале дестиловане воде, охлађене и замрзнуте, разливане у месарске лодне, које ће приликом производње бити додаване у облику леда у количинама исто од по 2 килограма по производној шаржи (25 %). Свака производна шаржа франкфуртера садржаће 8 килограма смесе: 50 % свињског мяса (4 kg мяса од бута), 25 % чврстог масног ткива (2 kg), 25 % леда (2 kg), 1,7 % нитритне соли и 0,3 % полифосфата.

Да би одредили да ли додаток гљива има антиоксидативни и антимикуробни ефекат у франкфуртерима, уобичајено коришћене зачине као што су бибер, бели лук и паприка нећемо користити приликом производног процеса. Такође, нећемо додавати дим како би избегли маскирање антиоксидативног и антимикуробног потенцијала самих гљива. Свака појединачна производна шаржа биће напуњена у полиамидне омотаче, барена на температури од 80 °C, а све до постизања 72 °C у центру производа. Тако добијени франкфуртери биће хлађени, а затим и паковани у вакуум кесе, тако да ће свака кеса бити означена скраћеним називом гљиве који се користио у производном процесу, као и одговарајућом концентрацијом. Пошто је цео оглед конципиран да буде одрађен у трипликату, и само паковање франкфуртера извршићемо на тај начин да у свакој вакуум кеси буду три кобасице, по једна из сваке појединачне производне шарже за појединачну гљиву, идентичне концентрације. Цео производни процес биће одрађен у погону Пољопривредног факултета у Београду, катедре за технологију анималних производа.

Да би испитали утицај додатка гљива на укупан квалитет франкфуртера, извршићемо следеће анализе:

Одређивање основног хемијског састава. Основни хемијски састав биће урађен по методама препорученим од међународне организације за стандардизацију (ISO), и то: садржај воде (ISO, 1442, 1997), садржај протеина (азот x 6.25; ISO 937, 1978) и садржај укупних масти (ISO 1443, 1973). Као резултат биће узета аритметичка средина одређена на три франкфуртера из истог паковања.

Мерење рН вредности. рН вредност биће одређена употребом портабл рН метра (Consort C931, Turnhout, Belgium) опремљеног са убудном ојачаном стакленом комбинованом електродом (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) за директно одређивање вредности рН у производима од мяса. Пре и током читавања рН метар ће бити калибрисан стандардним фосфатним пуферима (рН пуфера за калибрацију је био 7,02 и 4,00 на 20 °C) и подешен на измерену температуру кобасица. Као резултат ће бити узета аритметичка средина вредности рН одређене у три кобасице из сваког појединачног паковања (SRPS ISO 2917, 2004, референтна метода).

Метода одређивања садржаја укупних фенола. Принцип методе заснива се на екстракцији хомогенизованих узорака кобасица (5 g) са 25 mL етанола (96 %). Екстракција узорака биће извршена у ултратураксу на 15000 обртаја током 2 минута. Тако добијени

екстракт ће бити филтриран кроз филтер папир пора 1-2 μm . У епрувету ће се након филтрирања додавати 1 mL екстракта, а након тога Folin-Ciocalteu реагенс (0,5 mL) и засићени раствор натријум-карбоната (1 mL). Након 1 часа формираће се плаво обојење, које ће се мерити на таласној дужини од 725 nm у односу на слепу пробу. Садржај фенола рачунаће се на калибрациону криву (функција апсорбације у зависности од концентрације) стандардног раствора галне киселине. Резултат ће бити изражен као милиграм-еквивалента галне киселине по килограму узорка - mg GAE/kg (Naveena et al., 2008). Као резултат биће узета аритметичка средина садржаја фенола одређена на три франкфуртера из истог паковања.

Антиоксидативна својства екстракта франкфуртера:

Биће извршена анализирања етанолних екстракта франкфуртера са додатком гљива тако што ће 20 g свежих франкфуртера бити самлевено у блендеру (Blender 8011S, Waring Commercial, Torrington, Connecticut, USA) са етанолом (200 mL) у трајању од једног минута и остављено на мешању (Lab Companion SI-600R Benchtop Shaker, Minnesota, USA), 120 обртаја, у трајању од 24 часа, на собној температури. Након филтрације (филтер папир Whatman No.1) течни делови биће сакупљени. Поступак ће бити поновљен још једанпут на исти начин и сакупљени филтрати биће упарени под ниским притиском (37 °C) (Rotavapor R-100, Buchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland). Екстракти ће бити чувани у фрижидеру (4 °C) непосредно до вршења анализа. Од антиоксидативних анализа екстракта франкфуртера, биће извршене следеће методе: **ABTS тест**, **CUPRAC тест** и **методе одређивања антиоксидативне активности помоћу избељивања β -каротена**.

ABTS тест. ABTS тест биће изведен према методи Петровић и сар., (2016) адаптираној за читач микротитарских плоча са 96 места. Водени раствор ABTS (5 mL, 3,8 mg/mL) биће измешан са калијум персулфатом (0,088 mL, 38mg/mL), остављен 16 часова и подешен етанолом на 734 nm. Етанолни раствори екстракта (0,02 mL) биће мешани са ABTS раствором и остављени на мрачном месту у трајању од десет минута. Апсорбанца ће бити прочитана помоћу читача микротитарских плоча (BioTek ELx808, Winooski, VT, USA) на 734 nm, у односу на слепу пробу (0,02 mL етанола и 0,2 mL ABTS раствора). ABTS неутрализација биће изражена као %, користећи следећу једначину:

$$ABTS_n (\%) = \frac{\text{Аслепа проба} - \text{Аузорак}}{\text{Аслепа проба}} \times 100$$

CUPRAC тест. Способност екстракта да редукују бакарни јон биће одеђена према методи коју су дали Öztürk et al., (2011). Раствори Cu(II) (10 mM, 0,05 mL), неокупроина (7,5 mM, 0,05 mL), амонијум ацетатног пуфера (1 M, pH 7,0, 0,06 mL) и серијска разређења етанолних екстракта франкфуртера припремљених у води биће додати у 96 бунарића микротитарске плоче и инкубирани у трајању од једног часа, на температури од 30 °C. Апсорбанца ће бити измерена на читачу микротитарских плоча на 450 nm у односу на слепу пробу (етанол ће бити коришћен уместо узорка).

Одређивање антиоксидативне активности помоћу методе избељивања β -каротена. β -каротен линолеински модел систем (Barros et al., 2007) са модификацијама биће коришћен у циљу испитивања етанолних екстракта франкфуртера. Да бисмо добили радни раствор β -каротена, 1 mg праха реагенса биће измешан са 5 mL хлороформа и упарен под вакуумом, на 40 °C. Након тога, линолеинска киселина (0,04 g), Tween 80 (0.4 g) и

дестилована вода (100 mL) биће додати и енергично мешани на магнетној мешалици. Аликвоти раствора узорка (0,02 mL) биће додати у бунариће микротитарских плоча, а затим и радни раствор β -каротена (0,25 mL). Апсорбанца ће бити мерена одмах, на 450 nm, као и 50 минута након инкубације на температури од 45 °C, у односу на слебу пробу (вода). Резултати ће бити изражени као % инхибиције оксидације липида:

$$\text{ILP (\%)} = \frac{\Delta\text{Ab} - \Delta\text{As}}{\Delta\text{Ab}} \times 100$$

где је ΔAb разлика између апсорбанце слепе пробе мерене одмах након додавања реагенса и након 50 минута од инкубације; ΔAs је разлика апсорбанце екстракта мерена одмах након додавања реагенса и 50 минута након инкубације.

ТБАРС метода. Ова метода биће спроведена према методи Botsoglou et al. (1994) са модификацијама. Укупна запремина трихлорсирћетне киселине (ТСА) биће додата узорцима и извршиће се екстракција у ултразвучном воденом купатилу XUB 12 (Grant Instruments, Cambridge, UK). Спектрофотометар Jenway 6300 (Jenway, Felsted, United Kingdom) биће коришћен за мерење апсорбанце. ТБАРС вредности биће изражене као милиграми малондиалдехида на килограм узорка (mg MDA/kg).

Микробиолошке анализе. 25 g узорка биће хомогенизовано у трајању од 10 минута на 200 обртаја (Unimax 1010, Heidolph, Germany) у 225 mL 1 g/L пуферне пептонске воде (Merck, Darmstadt) и биће припремљена серија децималних разређења. Након припреме серијских децималних разређења, 1 mL сваког разређења биће унет у појединачне, стерилне Петри шоље и преливен одговарајућом хранљивом подлогом за појединачне испитиване микроорганизме. Биће спроведене следеће микробиолошке анализе: укупан број аеробних мезофилних бактерија према ISO 21527-2, присуство или одсуство *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, коагулаза позитивних *Staphylococcus aureus* и сулфиторедукујућих клостридија биће одређено према ISO 16649-2, ISO 6579, ISO 11290-2, ISO 6888-1, и ISO 7937, респективно. Резултати ће бити изражени као log cfu/g.

„Texture profile analysis (TPA)“ метода. Текстуралне особине биће мерене на собној температури користећи TA.XT Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., UK) са потисном моћи од 50 kg. Текстуралне особине франкфуртера биће испитиване тако што ће се узимати узорци из самог језгра (средине) сваке појединачне кобасице: 12 милиметара широки и 20 милиметара високи и биће позиционирани усправно на платформу и компримовани два пута, до 75 % од оригиналне висине узорка, са цилиндричним алуминијумским наставком (P/25). Текстуралне особине које очекујемо да ћемо добити овом методом су: чврстоћа, еластичност, гумавост, жвакљивост и кохезивност (Pons & Fiszman, 1996). Ове особине биће добијене из најмање десет мерења из сваке појединачне производне шарже.

„Warner–Bratzler shear force (WB)“ метода. Сила у овој методи биће мерена смицањем кроз узорке франкфуртера (22 mm у пречнику). Наставак који ће бити коришћен у методи назива се „Warner–Bratzler V notch blade“ и биће закачен на уређај TA.XT Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., UK). Очекивани текстурални параметри који ће се добити јесу чврстоћа и жилавост.

Мерење боје помоћу компјутерског визуелног система. Компјутерски визуелни систем ће се састојати из следећих елемената: мрачне коморе, дигиталне камере, рачунара и монитора. У експерименту ће се користити дигитална камера Sony DSLR-A200 (10,2 М, CCD сензор). Камера ће се налазити на постољу, вертикално постављена и удаљености 30 cm од узорка. Подешавања камере ће бити следећа: брзина затварача 1/6 s, мануелни режим (М), отвор Av F/11,0, ISO брзина 100, без блица, жижна даљина 30 mm, објектив: DT-S18-70 mm f 3,5-5,6. Четири флуоросцентне лампе (Master Graphica TLD 965) са температуром боје 6500 K ће се користити за осветљавање. У циљу добијања што униформнијег осветљења узорка, лампе (дужине 60 cm) ће бити смештене на удаљености 50 cm од узорка и под углом од 45°. Камера ће се налазити на постољу (које ће се налазити на поклопцу кутије) и повезивати са даљинским помоћу којег ће се вршити фотографисање узорака. Камера и лампе ће бити смештене унутар мрачне коморе чији ће унутрашњи зидови бити обложени црним фотографским платном како би се смањило расипање и дифузија светлости. Камера ће се пре саме анализе калибрисати помоћу стандардне плочице X-Rite ColorChecker Passport (Michigan, USA). Плочица (4x4 cm²) ће имати 24 стандардне боје. ColorChecker ће бити фотографисан употребом имплементованог компјутерског визуелног система како би се добили улазни сигнали RGB у теоретском распону 0-225 (RGB вредности се изражавају као sRGB D65 и CIE Lab D50, 2° посматрач). Калибрација ће се вршити фотографисањем плочице и потом отворити у одговарајућем софтверу ColorChecker Passport 1.0.1, X-Rite Inc који ће бити инсталиран на компјутеру и који ће омогућавати аутоматску процену вредности боје и креирање DNG профила слике. Свака камера види боје различито и формирањем овог профила ће се онемогућити варијације. Направљен профил ће се користити за све слике уз исте услове осветљења. Камера ће бити повезана са Toshiba Portege R830 рачунаром опремљеним са 22"EA53 LG InPlaneSwitching LED спољашњим монитором дизајнираним да побољша репродукцију боје. Монитор sRGB гамут ће бити калибрисан са X-Rite и Display Pro уређајем са температуром боје од 6500 K, мрежом гама 2.2 и белог светла 140 cd/m². i1Profiler 1.5.6 софтвер ће бити коришћен да се креира ICC профил монитора. За анализу слика користиће се програм Adobe Photoshop CC (64 bit). RGB слике ће бити добијене од RAW формата слика. Боје ће се мерити коришћењем алата Color Sampler Tool.

Сензорна оцена. Сензорна оцена франкфуртера биће извршена тестом прихватљивости, од стране потрошача који ће оцењивати мирис, укус, укупну прихватљивост, односно дати одговор (да / не) на питање да ли би куповали овако добијен производ (Peryam & Pilgrim, 1957).

Статистичка анализа. Статистичка обрада података биће одрађена помоћу XLStat и SPSS софтвера, применом одговарајућих статистичких метода.

6. Списак литературе који ће се користити

Списак литературе која ће се користити налази се у прилогу 1.

7. Списак саопштених и објављених научних и стручних радова

Списак саопштених и објављених научних радова кандидата Саше Новаковића налази се у прилогу 2.

8. Биографија кандидата

Саша Новаковић рођен је 20.11.1990. године у Прибоју. Основну школу и гимназију завршио је у Рудом (Босна и Херцеговина). На Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, на катедри за технологију анималних производа дипломирао је 2013. године са просечном оценом 8,87 (осам 87/100) у току студија. Након дипломирања, у марту 2014. године запослио се у индустрији меса „ПКБ Имес“, где је радио као технолог до августа 2015. године. Мастер академске студије такође је завршио на истој катедри, 2015. године, са просечном оценом 9,43 (девет 43/100). Докторске академске студије уписао је 2015. године и положио све испите предвиђене планом и програмом, са просечном оценом 9,42 (девет 42/100). Тренутно је запослен на Пољопривредном факултету у Београду као истраживач-приправник, на пројекту ИИИ 46009, „Унапређење и развој хигијенских и технолошких поступака у производњи намирница животињског порекла у циљу добијања квалитетних и безбедних производа конкурентних на светском тржишту.“ У периоду од 20.11.- 22.11.2017. године учествовао је на едукативном семинару „Harmonization of methods in entire male and immunocastrate research“ одржаном у Љубљани, Словенија. У периоду од 08.02.-09.02.2018. учествовао је на састанку експерата конзорцијума COST Акције CA15215 “Ирема”, Лисабон, Португалија, где је имао усмену презентацију апстракта, под називом “Attitudes of Serbian consumers towards animal welfare and surgical castration pigs”. У августу 2018. године учествовао је на водећем међународном конгресу сточарства у Дубровнику, где је имао постерску презентацију апстракта. Кандидат се активно служи енглеским језиком и има међународно признату диплому „Cambridge English Level 1 Certificate in ESOL International (First)*“.

9. Закључак и предлог

На основу анализе пријаве докторске дисертације Саше Новаковића, мастер инжењера технологије, а која се односи на научни и стручни допринос тематике, Комисија закључује да је кандидат изабрао тему од значаја за прехранбену технологију и веома важну у науци и технологији меса. Предложена свеобухватна истраживања конципирана су тако да дају резултате од значаја не само у научне сврхе, већ могу бити искоришћена у индустрији меса приликом развоја нових производа. Резултати лабораторијског испитивања требало би да покажу како додаток гљива позитивно утиче на параметре укупног квалитета барених кобасица у типу франкфуртера, а самим тим и њихов утицај на одрживост финалног производа.

Кандидат је у својој пријави прецизно и јасно дефинисао предмет, циљеве и структуру истраживања, образложио методолошки оквир, поставио оригиналне научне хипотезе и објективно сагледао научну и практичну релевантност предложеног истраживања.

Комисија позитивно оцењује поднету пријаву и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета да је прихвати и одобри кандидату Саше Новаковићу рад на докторској дисертацији под насловом који гласи „Утицај додатка вргања (*Boletus edulis*), лисичарке (*Cantharellus cibarius*) и црне трубе (*Craterellus cornucopioides*) на укупан квалитет барених кобасица у типу франкфуртера“.

Комисија предлаже за ментора при изради ове докторске дисертације др Игора Томашевића, ванредног професора Пољопривредног факултета Универзитета у Београду.

У Београду,
27.12.2018. године

Чланови комисије

др Игор Томашевић, ванредни професор,
Универзитет у Београду, Пољопривредни
факултет, (ужа научна област - технологија
анималних производа)

др Душан Живковић, редовни професор,
Универзитет у Београду, Пољопривредни
факултет, (ужа научна област - технологија
анималних производа)

др Владимир Томовић, ванредни професор,
Универзитет у Новом Саду, Технолошки
факултет Нови Сад, (ужа научна област –
прехрамбено инжењерство)

Прилог 1.

- 1.) Pil-Nam S., Park K. M., Kang G. H., Cho S. H., Van-Ba H., (2015): The impact of addition of shiitake on quality characteristics of frankfurter during refrigerated storage. *LWT – Food Science and Technology*. 62: 62-68.
- 2.) Deda M. S., Bloukas J. G., Fista G. A., (2007): Effect of tomato paste and nitrite level on processing and quality characteristics of frankfurters. *Meat Science*. 76: 501-508.
- 3.) Zhang N., Chen H., Zhang Y., Ma L., Xu X., (2013): Comparative studies on chemical parameters and antioxidant properties of stipes and caps of shiitake mushroom as affected by different drying methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93: 3107-3113.
- 4.) Cho I. H., Choi H. K., Kim Y. S., (2010): Comparison of umami-taste active components in the pileus and stipe of pine-mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.) of different grades. *Food Chemistry*. 118: 804-807.
- 5.) Naveena B. M., Sen A. R., Vaithiyanathan S., Babji Y., Kondaiah N., (2008): Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. *Meat Science*. 80: 1304-1308.
- 6.) Botsoglou, N.A., Fletouris, D.J., Papageorgiou, G.E., Vassilopoulos, V.N., Mantis A.J., Trakatellis, A. G. (1994): Rapid, sensitive and specific thiobarbituric acid method for measurement of lipid peroxidation in animal tissue, food and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- 7.) Pons M., Fiszman S. M., (1996): Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. *Journal of Texture Studies*. 27: 597-624.
- 8.) Peryam D. R., Pilgrim F. J. (1957): Hedonic scale method of measuring food preferences. *Food Technology*. 11: 9-14.
- 9.) Barros, L., Baptista, P., Ferreira, I.F.C.R. (2007): Effect of *Lactarius piperatus* fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. *Food and Chemical Toxicology*. 45: 1731-1737.
- 10.) Petrović, P., Vunduk, J., Klaus, A., Kozarski, M., Nikšić, M., Žižak, Ž., Vuković, N., Šekularac, G., Drmanić, S. and Bugarski, B. (2016), Biological potential of puffballs: A comparative analysis. *Journal of Functional Foods*. 21: 36-49.
- 11.) Öztürk, M., Duru, M.E., Klaus, A., Kivrak, Ş., Mercan-Doğan, N., Türkoglu, A., Özler, M.A. (2011), In vitro antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. *Food and Chemical Toxicology*. 49: 1353-1360.
- 12.) A. Klaus, M. Kozarski, J. Vunduk, N. Todorovic, D. Jakovljevic, Z. Zizak, V. Pavlovic, S. Levic, M. Niksic, L.J.L.D Van Griensven 2015: Biological potential of extracts of the wild edible Basidiomycete mushroom *Grifola frondosa*. *Food Research International*. 67: 272-283.
- 13.) CLSI 2005: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 15th informational supplement. CLSI document M100-S15. Wayne, PA, USA.
- 14.) Vunduk, J., Klaus, A., Kozarski, M., Petrović, P., Žižak, Ž., Nikšić, M. & Van Griensven, L.J. 2015: Did the Iceman know better? Screening of the medicinal properties of the birch polypore medicinal mushroom *Piptoporus betulinus* (Higher Basidiomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 17(12): 1113-1125.

- 15.) Ba H. V., Seo H. W., Cho S. H., Kim Y. S., Kim J. H., Ham J. S., Park B. Y., Pil-Nam S., (2017): Effects of extraction methods of shiitake by-products on their antioxidant and antimicrobial activities in fermented sausages during storage. Food Control. 79: 109-118.

Прилог 2.

- 1.) Tomasevic I., **Novakovic S.**, Solowiej B., Zdolec N., Skunca D., Krocko M., Nedomova S., Kolaj R., Aleksiev G., Djekic I., (2018): Consumers' perceptions, attitudes and perceived quality of game meat in ten European countries. Meat Science. 142: 5-13. (<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.016>).
- 2.) Tomasevic I., Stanisic N., **Novakovic S.**, Milovanovic B., Kljajevic N., Milojevic L., (2017): Effect of pork to beef meat ratio on the physicochemical properties of frankfurters. Meat technology 58: 26-31. (http://www.journalmeattechnology.com/index.php/meat_technology/article/view/51)
- 3.) **Novakovic S.**, Tomasevic I., (2017): A comparison between Warner-Bratzler shear force measurement and texture profile analysis of meat and meat products: a review. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 85: 012063. Proceedings 59th International Meat Industry Conference MEATCON, Zlatibor, Serbia. ([doi :10.1088/1755-1315/85/1/012063](https://doi.org/10.1088/1755-1315/85/1/012063))
- 4.) Stajic S., Stanisic N., **Novakovic S.**, Kovjanic N., Tomovic V., Jokanovic, Zivkovic D., (2016): The effect of plant oils on physicochemical and sensory properties of dry fermented sausages. Savetovanje o biotehnologiji, Čačak, Srbija, March 11-12. (<http://arhiva.nara.ac.rs/handle/123456789/1701>)
- 5.) Tomasevic I., **Novakovic S.**, Djekic I., Nakov D., Font-I-Furnols M., (2018): Consumer's attitudes towards surgical castration of pigs in three Western Balkan countries. Book of Abstracts of the 69th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science, 27-31 August, Dubrovnik, Croatia. (<https://www.wageningenacademic.com/doi/book/10.3920/978-90-8686-871-1>)

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

Име и презиме ментора: Игор Томашевић

Звање: ванредни професор

Списак радова који квалификују ментора за вожење докторске дисертације:

- 1.) **Tomasevic I.**, Tomovic V., Milovanovic B., Lorenzo J., Djordjevic V., Karabasil N., Djekic I., (2019): Comparison of a computer vision system vs. traditional colorimeter for color evaluation of meat products with various physical properties. Meat Science. 148: 5-12. (<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.09.015>)
- 2.) **Tomasevic I.**, Dodevska M., Simic M., Raicevic S., Matovic V., Djekic I., (2018): A decade of sulphite control in Serbian meat industry and the effect of HACCP. Food Additives & Contaminants: Part B. 11: 49-53. ([10.1080/19393210.2017.1403492](https://doi.org/10.1080/19393210.2017.1403492))
- 3.) **Tomasevic I.**, Novakovic S., Solowiej B., Zdolec N., Skunca D., Krocko M., Nedomova S., Kolaj R., Aleksiev G., Djekic I., (2018): Consumers' perceptions, attitudes and perceived quality of game meat in ten European countries. Meat Science. 142: 5-13. (<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.016>)
- 4.) **Tomasevic I.**, Dodevska M., Simic M., Raicevic S., Matovic V., Djekic I., (2017): The use and control of nitrites in Serbian meat industry and the influence of mandatory HACCP implementation. Meat Science. 34: 76-78. (<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.07.020>)
- 5.) **Tomasevic I.**, Kuzmanovic J., Andjelkovic A., Saracevic M., Stojanovic M., Djekic I., (2016): The effects of mandatory HACCP implementation on microbiological indicators of process hygiene in meat processing and retail establishments in Serbia. Meat Science. 114: 54-57. (<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.12.008>)