

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Број захтева: 32/21-8.1.

Датум: 25.11.2020

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

**за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији
за кандидата на докторским студијама**

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 186/15-пречишћени текст и 189/16), дате сагласност на одлуку о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације:

Кандидат **САША (Мирослав) НОВАКОВИЋ**, студент докторских студија на студијском програму Прехрамбена технологија, пријавио је докторску дисертацију под називом: „Утицај додатка вргања (*Boletus edulis*), лисичарке (*Cantharellus cibarius*) и црне трубе (*Craterellus cornucopioides*) на укупан квалитет барених кобасица у типу франкфуртера“

из научне области Прехрамбена технологија.

Универзитет је дана 12.02.2019. године, својим актом 02-08 Број: 61206-567/2-19 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: «**Утицај додатка вргања (*Boletus edulis*), лисичарке (*Cantharellus cibarius*) и црне трубе (*Craterellus cornucopioides*) на укупан квалитет барених кобасица у типу франкфуртера**».

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 24.06.2020. године, одлуком Факултета број 32/17-8.1. у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област, установа у којој је запослен

1. др Игор Томашевић, ванредни професор, Технологија анималних производа, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
2. др Душан Живковић, редовни професор, Технологија анималних производа, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
3. др Анита Клаус, ванредни професор, Технолошка микробиологија, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
4. др Владимир Томовић, редовни професор, Прехрамбено инжењерство, Универзитет у Новом Саду - Технолошки факултет,
5. др Весна Ђорђевић, научни саветник, Хигијена и технологија намирница анималног порекла, Институт за хигијену и технологију меса у Београду.

Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 25.11.2020. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Душан Живковић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 32/21-8.1.
Датум: 25.11.2020. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 44. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 25.11.2020. године, донело је

О Д Л У К У

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

II Универзитет је дана 12.02.2019. године, актом 02-08 број: 61206-567/2-19, дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Радови кандидата у научном часопису који га квалификује за одбрану докторске дисертације:

Novakovic, S.; Djekic, I.; Klaus, A.; Vunduk, J.; Djordjevic, V.; Tomović, V.; Šojić, B.; Kocić-Tanackov, S.; Lorenzo, J.M.; Barba, F.J.; Tomasevic, I. The Effect of *Cantharellus Cibarius* Addition on Quality Characteristics of Frankfurter during Refrigerated Storage. *Foods* 2019, 8, 635.

Novakovic, S.; Djekic, I.; Klaus, A.; Vunduk, J.; Đorđević, V.; Tomovic, V.; Kočić- Tanackov, S.; Lorenzo, J.M.; Barba, F.J.; Tomasevic, I. Application of porcini mushroom (*Boletus edulis*) to improve the quality of frankfurters. *Journal of Food Processing and Preservation* 2020, 44, e14556.

Novakovic, S.; Djekic, I.; Klaus, A.; Vunduk, J.; Đorđević, V.; Tomovic, V.; Kočić- Tanackov, S.; Lorenzo, J.M.; Barba, F.J.; Tomasevic, I. The potential of horn of plenty mushroom (*Craterellus cornucopioides*) to improve the shelf life of frankfurters. *Fleischwirtschaft – Accepted for publication* (M23 – IF 0.225).

**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

Предмет: Извештај комисије за оцену урађене докторске дисертације кандидата Саше М. Новаковића, маг. инж.

Одлуком Наставно-научног већа Факултета број 32/17-8.1. од 24.06.2020. год, именовани смо у Комисију за оцену урађене 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 М. Новаковића, маг. инж, па пошто смо проучили завршену докторску дисертацију, подносимо следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација Саше М. Новаковића, маг. инж, под насловом **»Утицај додатка вргања (*Boletus edulis*), лисичарке (*Cantharellus cibarius*) и црне трубе (*Craterellus cornucopioides*) на укупан квалитет барених кобасица у типу франкфуртера«**, написана је према Упутству за обликовање штампане и електронске верзије докторске дисертације Универзитета у Београду, на 100 страна, у оквиру којих се налазе 31 табела, 15 графика и 9 слика. Докторска дисертација садржи следеће делове: насловну страну на српском и енглеском језику, страну са списком чланова комисије, страну с резимеом на српском и енглеском језику, садржај и следећа поглавља: **Увод** (стр. 1–2); **Преглед литературе** (стр. 3–14); **Циљ истраживања** (стр. 15–16); **Материјал и методе** (стр. 17–24); **Резултати и дискусија** (стр. 25–75); **Литература** (стр. 76–89); **Прилог** (стр. 90–95); **Биографија аутора** (стр 96); **Изјаве о ауторству, о истоветности штампане и електронске верзије и о коришћењу** (стр. 97–100).

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Увод: У овом поглављу кандидат износи трендове у производњи фино уситњених барених кобасица у свету и код нас, а затим даје кратак резиме о складиштењу кобасица у типу франкфуртера и променама које настају током чувања, са акцентом на оксидативне промене које се дешавају том приликом, као промене које у највећем степену нарушавају квалитет финалног производа. У даљем тексту наводи се повећан значај адитива који делују антиоксидативно, а природног су порекла, јер постоје научне индикације о штетном дејству комерцијалних антиоксиданаса. С тим у вези, у даљем тексту приказано је да гљиве остварују управо такве особине и карактеристике, вршећи антиоксидативно и антимикробно дејство, што је поткрепљено навођењем одговарајућих научних референци.

Преглед литературе: Ово поглавље састоји се из 6 потпоглавља, у којима је кандидат приказао доступне податке из литературе који су у вези са предметом проучавања докторске дисертације. У складу с тим, у првом делу овог поглавља, кандидат наводи историјат производње барених кобасица, а затим и које услове треба да испуњавају кобасице у типу франкфуртера да би се класификовале под тим именом, а у складу са важећим Правиликом о квалитету уситњеног мяса, полупроизвода од мяса и производа од мяса (Службени Гласник РС, 50/19, 2019). У другом потпоглављу дат је приказ састава фино уситњених барених кобасица, као и сировина које се користе приликом израде, док се у трећем говори о технолошком процесу производње и одрживости производа овог типа, са акцентом на физичко-хемијске процесе који се дешавају приликом саме израде кобасица. Четврто потпоглавље доноси основне податке о гљивама као изворима антиоксидативних и антимикуробних компоненти, са освртом на савремена истраживања и доступну научну литературу. Одабране врсте гљива - *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius* и *Craterellus cornucopioides*, које су коришћене приликом производње кобасица у типу франкфуртера, као и принцип на основу којег су исте одабране, објашњен је у петом потпоглављу. У последњем, шестом потпоглављу, кандидат представља механизам антиоксидативног деловања, као и комплексност примене метода које се баве овом проблематиком.

Циљ истраживања: Полазни циљ овог истраживања био је испитивање антиоксидативног и антимикуробног потенцијала декокта вргања (*Boletus edulis*), лисичарке (*Cantharellus cibarius*) и црне трубе (*Craterellus cornucopioides*), како би се добила јаснија слика о сировини која ће бити додавана приликом производње франкфуртера, а након тога и да се испита дејство самих гљива на квалитет барених кобасица у типу франкфуртера током складиштења.

Материјал и методе:

У раду су коришћене 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 је припреман водени екстракт гљива. Вода високог степена чистоће и УВ стерилисана (Milli-Q Integral Water Purification System for Ultrapure Water, Merck, Darmstadt) користила се за испитивање. У циљу добијања воденог екстракта, у односу сушене гљиве и вода (1:10) загреване су на температуру од 80 °C током једног часа. Добијени водени екстракт подвргнут је даљим анализама, а у циљу утврђивања антиоксидативних и антимикуробних карактеристика самих гљива.

Антиоксидативне особине декокта гљива: испитивање антиоксидативних особина екстракта гљива „*in vitro*“ урађено је следећим методама:

- способност хватања 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl радикала
- ABTS метод
- способност редукције јона гвожђа (FRAP тест)
- способност редукције јона бакра (CUPRAC тест)

- испитивање антиоксидативних својстава екстраката коњуген диенском методом
- одређивањем антиоксидативне активности методом избељивања β -каротена

Способност хватања 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl радикала. У првој серији експеримената сваки од спрашених узорак гљива у води мешао се са раствором 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 мерена је апсорбанца на 517 nm. Аскорбинска киселина и ВНТ коришћени су као позитивне контроле. За сваки узорак израчуната је и EC₅₀ вредност која представља ефективну концентрацију екстракта (mg екстракта/mL) при којој се ухвати 50 % DPPH радикала. Ова вредност добијена је интерполацијом из линеарне регресионе анализе.

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

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

Способност редукције јона гвожђа (FRAP тест). Сваки од спрашених узорак гљива у води мешан је са 0,2 М натријум-фосфатним пуфером, pH 6,6, и 1 % калијум-ферицијанидом, по поступку који су дали Петровић и сар. (2016). Затим је додат 10 % TFA. После центрифугирања горњем слоју додата је вода и 0,1 % фери-хлорида. Апсорбанца је мерена спектрофотометријски на 700 nm. Као позитивна контрола коришћена је аскорбинска киселина. Виша вредност апсорбанце указује на вишу редукциону способност. За сваки узорак израчуната је и EC₅₀ вредност која је ефективна концентрација екстракта (mg екстракта/mL) при којој је апсорбанца 0,5.

Способност редукције јона бакра (CUPRAC тест). Способност екстраката да редукују бакарни јон одређена је према методи коју су дали Öztürk и сар, (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 екстраката гљива припремљених у води додати су у 96 бунарића микротитарске плоче и инкубирани у трајању од једног часа, на температури од 30 °C. Апсорбанца је измерена на читачу микротитарских плоча на 450 nm у односу на слепо пробу (вода је коришћена уместо узорка).

Испитивање антиоксидативних својстава коњуген диенском методом. Коњуген диенска метода, модификована као код Петровић и сар. (2016), код које се сваки од спрашених узорак гљива у води мешао са 10 mM емулзијом линолеинске киселине у 0,2 M натријум-фосфатном пуферу, pH 6,5. Tween 20, 6,5 mM, додат је ради стабилизације емулзије. После 15 h инкубирања у мраку, на 37 °C, уз стално мешање, узет је аликвот коме је додат апсолутни метанол. После центрифугирања узет је супернатант коме је мерена апсорбанца спектрофотометријски на 234 nm. Као позитивне контроле коришћени су аскорбинска киселина и α -токоферол. За сваки узорак израчуната је EC₅₀ вредност која

представља ефективну концентрацију екстракта (mg екстракта/mL) при којој је антиоксидативна активност 50 %.

Одређивање антиоксидативне активности помоћу методе избељивања β-каротена. β-каротен линолеински модел систем (Barros и сар, 2007) са модификацијама коришћен је у циљу испитивања водених екстраката гљива. Да бисмо добили радни раствор β-каротена, 1 mg праха реагенса измешан је 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) су додати и енергично мешани на магнетној мешалици. Аликвоти раствора узорка (0,02 mL) додати су у бунариће микротитарских плоча, а затим и радни раствор β-каротена (0,25 mL). Апсорбанца је мерена одмах, на 450 nm, као и 50 минута након инкубације на температури од 45 °C, у односу на слебу пробу (вода). Резултати су изражени као % инхибиције оксидације липида:

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

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.

Антимикробни капацитет декокта гљива. У циљу одређивања антимикробног потенцијала гљива *in vitro* употребљене су 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 је антифунгицидна активност испитана користећи квасце *Candida albicans* 10231 и *Pichia fermentans* 28789. Сви микроорганизми пореклом су 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. Водени екстракти тестираних гљива подвргнути су микродилуционом тесту у циљу одређивања минималних инхибиторних (MIC) и минималних бактерицидних (MBC) концентрација (Клаус и сар, 2015, CLSI 2005).

Припрема воденог екстракта гљива за додавање у франкфуртере и производња кобасица. Прах вргања (*Boletus edulis*), лисичарке (*Cantharellus cibarius*) и црне трубе (*Craterellus cornucopioides*) купљен је од Б.М.Б. (Ариље, Србија). Декокти гљива припремљени су на следећи начин: 60 грама праха додато је у 2 литра дестиловане воде, претходно загрејане на 80 °C. Смеша је подвргнута рефлуксу у трајању од једног часа, 80 °C. Декокти добијени на овакав начин насути су у пластичне посуде, охлађени и замрзнути, у циљу добијања леда (декокт 1). Овај поступак урађен је у трипликату. Иста процедура коришћена је и за наредне три серије, само што је овај пут 120 грама праха гљиве коришћено у свакој појединачној серији, исти поступак поновљен је за све три врсте гљива (декокт 2). Контролна шаржа направљена је са формулацијом која је добијена претходним замрзавањем дестиловане воде. Сви третмани направљени су како би се добиле шарже од 8 кг: 50 % свињског меса (4 kg меса од бута), 25 % чврстог масног ткива (2 kg), 25 % леда (2 kg), 1,7 % натријум-нитрита и 0,3 % полифосфата.

Да би одредили да ли додатак гљива има антиоксидативни и антимикробни ефекат у франкфуртерима, уобичајено коришћени зачини као што су бибер, бели лук и паприка

нису коришћени приликом производног процеса. Такође, није додаван ни дим како би се избегло маскирање антиоксидативног и антимикубног потенцијала самих гљива. Свака појединачна производна шаржа напуњена је у полиетиленске омотаче, барена на температури од 80 °C, а све до постизања 72 °C у центру производа. Тако добијени франкфуртери су хлађени, а затим и паковани у вакуум кесе, тако да је свака кеса означена скраћеним називом гљиве који се користио у производном процесу, као и одговарајућом концентрацијом. Цео производни процес одрађен је у погону Пољопривредног факултета у Београду, катедре за технологију анималних производа.

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

Метода одређивања садржаја укупних фенола. Принцип методе заснован је на екстракцији хомогенизованих узорака кобасица (5 g) са 25 mL етанола (96 %). Екстракција узорака извршена је у ултратураксу на 15000 обртаја током 2 минута. Тако добијени екстракт је филтриран кроз филтер папир пора 1-2 μm . У епрувету је након филтрирања додаван 1 mL екстракта, а након тога Folin-Ciocalteu реагенс (0,5 mL) и засићени раствор натријум-карбоната (1 mL). Након 1 часа формирано је плаво обојење, које је мерено на таласној дужини од 725 nm у односу на слепу пробу. Садржај фенола рачунат је преко калибрационе криве (функција апсорбанције у зависности од концентрације) стандардног раствора галне киселине. Резултат је изражен као милиграм-еквивалента галне киселине по килограму узорка - mg GAE/kg (Naveena и сар, 2008). Сва мерења урађена су у трипликату.

Методe за одређивање антиоксидативних карактеристика франкфуртера:

Антиоксидативна својства екстракта франкфуртера мерена АБТС методом. 20 g свежих франкфуртера хомогенизовано је 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 су сакупљени. Поступак је поновљен још једанпут на исти начин и сакупљени филтрати су упарени под ниским притиском (37 °C) (Rotavapor R-100, Buchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland), а затим подвргнути АБТС тесту, који је претходно описан. Сва мерења су урађена у трипликату.

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

Одређивање основног хемијског састава. Основни хемијски састав урађен је по методама препорученим од међународне организације за стандардизацију (ISO), и то: садржај влаге (ISO, 1442, 1997), садржај протеина (азот $\times$ 6.25; ISO 937, 1978) и садржај укупних масти (ISO 1443, 1992).

Мерење боје помоћу компјутерског визуелног система. Компјутерски визуелни систем састоји се из следећих елемената: мрачне коморе, дигиталне камере, рачунара и монитора. У експерименту је коришћена дигитална камера Sony DSLR-A200 (10,2 М, CCD сензор). Камера се налазила на постољу, вертикално постављена и на удаљености 30 cm од узорка. Подешавања камере су 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 6500К коришћене су за осветљавање. У циљу добијања што униформнијег осветљења узорка, лампе (дужине 60 cm) биле су смештене на удаљености 50 cm од узорка и под углом од 45°. Камера се налазила на постољу (које се налазило на поклопцу кутије) и повезана са даљинским помоћу којег су снимани узорци. Камера и лампе су смештене унутар мрачне коморе чији су унутрашњи зидови обложени црним фотографским платном како би се смањило расипање и дифузија светлости. Камера је пре саме анализе калибрисана помоћу стандардне плочице X-Rite ColorChecker Passport (Michigan, USA). Плочица (4x4 cm²) има 24 стандардне боје. ColorChecker је 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 је вршена фотографисањем плочице и потом отварања у одговарајућем софтверу ColorChecker Passport 1.0.1, X-Rite Inc који је инсталиран на компјутеру и који омогућава аутоматску процену вредности боје и креирање DNG профила слике.

Мерење рН вредности. рН вредност одређена је 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 меса. Пре и током читавања рН метар је 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 узета је аритметичка средина вредности рН одређене у три кобасице из сваког појединачног паковања (SRPS ISO 2917, 2004, референтна метода).

Методе за инструментално мерење текстуре:

„Texture profile analysis (TPA)“ метода. Текстуралне особине мерене су на собној температури користећи TA.XT Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., UK) са потисном моћи од 50 kg. Текстуралне особине франкфуртера испитиване су тако што су узимани узорци из самог језгра (средине) сваке појединачне кобасице: 12 милиметара широки и 20 милиметара високи и позиционирани усправно на платформу и компримовани два пута, до 75 % од оригиналне висине узорка, са цилиндричним алуминијумским наставком (Р/25). Текстуралне особине које су добијене овом методом су: чврстоћа, еластичност, гумозност, жвакљивост и кохезивност (Pons i Fiszman, 1996).

„Warner–Bratzler shear force (WB)“ метода. Напон смицања по овој методи мерен је смицањем кроз узорке франкфуртера (22 mm у пречнику). Наставак који је коришћен у методи назива се „Warner-Bratzler V notch blade“ и закачен је на уређај TA.XT Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., UK). Параметар који се добија у овој методи називамо максимални напон смицања.

Микробиолошке анализе франкфуртера. Микробиолошке анализе извршене су на три узорка из сваког појединачног паковања. 25 g узорка хомогенизовано је у трајању од 10

минута на 200 обртаја (Unimax 1010, Heidolph, Germany) у 225 mL 1 g/L пуферне пептонске воде (Merck, Darmstadt) и припремљена је серија децималних разређења. Након припреме серијских децималних разређења, 1 mL сваког разређења унет је у појединачне, стерилне Петри шоље и преливен одговарајућом хранљивом подлогом за појединачне испитиване микроорганизме. Спроведене су следеће микробиолошке анализе: укупан број аеробних мезофилних бактерија (ISO 4833-2), присуство или одсуство *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, коагулаза позитивних *Staphylococcus aureus* и сулфиторедукујућих клостридија одређено је према ISO 7251, ISO 6579, ISO 11290-1, ISO 6888-1, и ISO 7937, редом. Резултати су изражени као log cfu/g.

Сензорна оцена. Потрошачки панел састојао се од 50 грађана Београда. Коришћена је 9 – бодовна хедонска скала (1 = екстремно ми се не свиђа, 5 = нити ми се свиђа нити ми се не свиђа и 9 = екстремно ми се свиђа) за оцењивање мириса, укуса и укупне прихватљивости, а за сваку појединачну варијанту франкфуртера. Истих 50 потрошача оцењивало је производе кроз седам временских пресека, а који одговарају различитим временима складиштења (24 сата након производње, 10, 20, 30, 40, 50 и 60 дана након производње), под идентичним условима тестирања. Униформни облици и величине кодирани су насумичним троцифреним бројевима и сервирани појединачно у пластичним посудама без мириса. Потрошачима је била доступна вода са смањеним садржајем минерала и несласти крекери као средство за чишћење непца (Peryam i Pilgrim, 1957). Сва мерења урађена су у трипликату.

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

Резултати и дискусија: Резултати истраживања обрађени су у оквиру три потпоглавља која, свако за себе, говори о утицају додатка једне врсте гљиве у две различите концентрације на укупан квалитет франкфуртера.

Кандидат је у оквиру докторске дисертације доказао да су све три одабране врсте гљива показале значајну антиоксидативну активност. Посебно добру антиоксидативну активност показао је *Boletus edulis* мерен АБТС тестом и методом избелјивања β -каротена и *Craterellus cornucopioides* мерен АБТС и коњуген диенском методом. Такође, доказано је и антимикробно дејство свих одабраних врста гљива. Наиме, декокт *Boletus edulis* показао је антимикробно дејство према *Yersinia enterocolitica* (MIC - 10 mg/ml), те *Escherichia coli* (O157:H7) и *Listeria monocytogenes* (MIC - 20 mg/ml), док је микробицидни ефекат уочен једино у односу на *Y. enterocolitica* (MBC – 20 mg/ml). Што се тиче *Cantharellus cibarius*, декокт ове гљиве показао је антибактеријску активност према *Y. enterocolitica* (MIC - 10 mg/ml) и мању активност према *L. monocytogenes* (MIC - 20 mg/ml). У погледу бактерицидне активности, декокти су показали овај ефекат једино при највећим тестираним концентрацијама (20 mg/ml) у односу на *L. monocytogenes* и *Y. enterocolitica*. Фунгистатско и фунгицидно деловање декокта према *Candida albicans* било је интензивније, изражено кроз исту вредност (10 mg/ml). Испитивање антимикробног ефекта декокта *C. cornucopioides* показало је да је овај декокт испољио ефекат на већину тестираних бактерија. Поред инхибиторне активности (MIC - 10-20 mg/ml), са изузетком *Bacillus cereus* и *Salmonella Typhimurium* (MIC > 20 mg/ml), бактерицидна активност (MBC - 20 mg/ml) потврђена је у односу на *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* и *Yersinia enterocolitica* (MBC – 20 mg/ml).

Након доказаног антиоксидативног и антимикуробног дејства декокта гљива, кандидат је приступио производњи фино уситњених барених кобасица у типу франкфуртера са додацима декокта гљива *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius* и *Craterellus cornucopioides* у концентрацијама 0,75% и 1,5%. Свака производна шаржа урађена је у трипликату.

Додатак гљива у франкфуртере резултовао је статистички значајно нижим степеном оксидације у односу на контролни узорак, а то је потврђено ТБАРС тестом. Код свих производних третмана са све три врсте додатих гљива, вредности током складиштења биле су мање од 1 мг малондиалдехида по кг франкфуртера, која је према доступној научној литератури постављена као граница за детекцију ужеглости производа.

У погледу основног хемијског састава франкфуртера са додатком све три врсте гљива, приметна је статистички значајно виша количина укупних протеина, а из разлога што се одређена количина протеина налазе у самим гљивама које су употребљиване приликом производње. Такође, мањи удео масти добијен је у кобасицама које су произведене са додатком гљива.

У погледу параметара инструментално одређене боје на пресеку кобасица, а у варијантама са *Boletus edulis* и *Cantharellus cibarius*, додатак гљива био је узрок значајно мање светлости (L^*) и значајно већег удела црвене (a^*) и жуте (b^*) боје. Да би са сигурношћу одредили како додатак гљива мења боју кобасица у типу франкфуртера, израчуната је ΔE вредност, вредност која може бити детектована људским оком једино ако је већа од 3. Варијанте са додатим *Boletus edulis* и *Cantharellus cibarius* резултовале су са умереном променом, док је варијанта са додатом *Craterellus cornucopioides* изазвала знатно више промене боје (22,55 и 31,42 за нижу и вишу концентрацију на крају складиштења), што представља негативну особину кад је у питању додавање ове врсте гљиве у финални производ. Што се тиче рН вредности, све испитиване варијанте биле су у нормалним границама за овај тип производа (6,03-6,19). Код свих варијанти произведених са додатком гљива, примећене су значајно више вредности у тврдоћи, гумозности и жвакљивости кобасица, текстуралних параметара који говоре да је аплицирање гљива у франкфуртере изазвало управо прижељкиване промене текстуралног профила. Наиме, већа количина инкорпорираних протеина у финални производ, те нижи садржај масти који је потврђен приликом испитивања основног хемијског састава, резултирали су формирањем гушћег протеинског матрикса, отпорнијег на компресију. Управо ови добијени параметри привлачнији су и за финалне потрошаче.

Што се тиче микробиолошког профила, додатак гљива *Boletus edulis* и *Cantharellus cibarius* резултовао је статистички значајно нижим вредностима (5,08 и 5,05 $\log_{10}$ cfu/g у варијантама са нижом и 5,39 и 4,70 $\log_{10}$ cfu/g у варијантама са вишом концентрацијом), а у односу на контролни узорак на крају складиштења, што је гарант безбедности и квалитета производа током два месеца чувања. С друге стране, додатак гљиве *Craterellus cornucopioides* једино при вишој концентрацији, а током 40 дана складиштења остварио је овај ефекат. У погледу сензорске прихватљивости производа, није утврђена статистички значајна разлика између варијанти са додатим *Boletus edulis* и *Cantharellus cibarius*, док је додатак *Craterellus cornucopioides* резултовао нижим оценама, изузев категорије мириса у првих двадесет дана складиштења.

Закључци: Резултати овог рада показали су да додатком све три врсте гљива долази до промене основног хемијског састава кобасица, а у правцу повећања садржаја укупних

протеина, што се сматра позитивном променом која је допринела бољем емулговању, стварајући стабилнији и чвршћи матрикс, а што је потврђено и анализирањем текстуралног профила код свих варијанти произведених франкфуртера. Такође, кобасице са додатим гљивама имале су значајно нижи степен оксидативних промена током складиштења у поређењу са контролом. Додатак *Boletus edulis* и *Cantharellus cibarius* резултовао је значајно нижим вредностима у броју укупних аеробних мезофилних бактерија током целокупног складиштења, док је додавање *Craterellus cornucopioides* постигло идентичне резултате у варијанти са додатом већом концентрацијом гљиве, а током складиштења од 40 дана. Што се тиче боје финалног производа, мање промене детектоване су у боји франкфуртера са додатком *Boletus edulis* и *Cantharellus cibarius*, а знатно веће промене условила је инкорпорација *Craterellus cornucopioides*, што је и највећи негативан утицај додатка гљива у фино уситњене барене кобасице у типу франкфуртера. Резултати сензорне анализе указују да су све варијанте са додатим гљивама прихватљиве потрошачима.

Имајући у виду све добијене резултате, може се закључити да је могуће произвести фино уситњене барене кобасице у типу франкфуртера са додатком *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius* и *Craterellus cornucopioides* значајно побољшаних технолошких својстава, а која су прихватљива и блиска конвенционалним кобасицама у типу франкфуртера.

Литература: У дисертацији је на правилан начин наведено укупно 164 референце. Избор референци је актуелан и одговара предмету проучавања докторске дисертације.

Прилог: Кандидат је у прилогу приказао фотографије начина производње и дела анализа фино уситњених барених кобасица у типу франкфуртера.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

На основу прегледа и анализе 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“ коју је поднео Саша М. Новаковић, магистар инжењерства, Комисија сматра да је дисертација урађена према одобреној пријави и представља оригинално и самостално научно дело.

Докторска дисертација представља оригиналну, самосталну и заокружену научно-истраживачку целину. У Уводу и Прегледу литературе кандидат је успешно образложио теоријску поставку своје докторске дисертације и на основу проучавања литературе правилно поставио циљ истраживања. Експериментални део дисертације методолошки је добро постављен, а одабране методе су савремене и омогућавају да се добију поуздани резултати, на основу којих се могу извести правилни закључци. Кандидат је врло успешно анализирао добијене резултате, упоређујући их са резултатима других аутора. Резултати истраживања остварени у оквиру ове дисертације су веома значајни, како за науку, тако и за праксу. Обзиром да је постигнуто смањење оксидативних промена и укупног броја аеробних мезофилних бактерија током складиштења искључиво применом декокта гљива, без додатних прилагођавања технолошког поступка, могуће је применити резултате овог рада и у индустријским условима, што је такође врло значајно.

На основу свега изнетог, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију маг. инж. Саше М. Новаковића, „Утицај додатка вргања (*Boletus edulis*), лисичарке (*Cantharellus cibarius*) и црне трубе (*Craterellus cornucopioides*) на укупан квалитет барених кобасица у типу франкфуртера“, и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцелу и омогући кандидату јавну одбрану.

Београд, 29.09.2020.

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 Анита Клаус, ванредни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
(ужа научна област: технолошка микробиологија)

Др Владимир Томовић, редовни професор
Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад
(ужа научна област: прехранбено инжењерство)

Др Весна Ђорђевић, научни саветник
Универзитет у Београду, Институт за хигијену и технологију меса
(ужа научна област: хигијена и технологија намирница
анималног порекла)

Прилог:

Радови Саше М. Новаковића објављени у научним часописима који су на SCI листи:

1. **Novakovic, S.**; Djekic, I.; Klaus, A.; Vunduk, J.; Djordjevic, V.; Tomović, V.; Šojić, B.; Kocić-Tanackov, S.; Lorenzo, J.M.; Barba, F.J.; Tomasevic, I. The Effect of *Cantharellus Cibarius* Addition on Quality Characteristics of Frankfurter during Refrigerated Storage. *Foods* 2019, 8, 635.
2. **Novakovic, S.**; Djekic, I.; Klaus, A.; Vunduk, J.; Đorđević, V.; Tomovic, V.; Kočić-Tanackov, S.; Lorenzo, J.M.; Barba, F.J.; Tomasevic, I. Application of porcini mushroom (*Boletus edulis*) to improve the quality of frankfurters. *Journal of Food Processing and Preservation* 2020, 44, e14556.
3. **Novakovic, S.**; Djekic, I.; Klaus, A.; Vunduk, J.; Đorđević, V.; Tomovic, V.; Kočić-Tanackov, S.; Lorenzo, J.M.; Barba, F.J.; Tomasevic, I. The potential of horn of plenty mushroom (*Craterellus cornucopioides*) to improve the shelf life of frankfurters. *Fleischwirtschaft – Accepted for publication* (M23 – IF 0.225).

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Датум: 29.09.2020.

**ОЦЕНА ИЗВЕШТАЈА О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ
ДИСЕРТАЦИЈЕ**

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности 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**”, аутора Саше Новаковића, констатујем да утврђено подударање текста последица цитата, личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, општих места и података, као и претходно публикованих резултата докторандових истраживања, који су проистекли из његове дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника.

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

Ментор:

Др Игор Томашевић, ванредни професор

Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

(ужа научна област: технологија анималних производа)
