

UNIVERZITET U BEOGRADU  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Saša M. Novaković

**UTICAJ DODATKA VRGANJA (*BOLETUS EDULIS*), LISIČARKE (*CANTHARELLUS CIBARIUS*) I CRNE TRUBE (*CRATERELLUS CORNUCOPIOIDES*) NA UKUPAN KVALITET BARENIH KOBASICA U TIPU FRANKFURTERA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2020.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF AGRICULTURE

Saša M. Novaković

**THE IMPACT OF THE ADDITION OF  
PORCINI (*BOLETUS EDULIS*),  
CHANTERELLE (*CANTHARELLUS  
CIBARIUS*) AND HORN OF PLENTY  
(*CRATERELLUS CORNUCOPIOIDES*) ON  
THE OVERALL QUALITY OF COOKED  
SAUSAGES IN THE TYPE OF  
FRANKFURTERS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2020.

# KOMISIJA ZA OCENU I ODBRANU

## MENTOR:

**dr Igor Tomašević, vanredni profesor**

Univerzitet u Beogradu

Poljoprivredni fakultet

## ČLANOVI KOMISIJE:

**dr Dušan Živković, redovni profesor**

Univerzitet u Beogradu

Poljoprivredni fakultet

**dr Anita Klaus, vanredni profesor**

Univerzitet u Beogradu

Poljoprivredni fakultet

**dr Vladimir Tomović, redovni profesor**

Univerzitet u Novom Sadu

Tehnološki fakultet Novi Sad

**dr Vesna Đorđević, naučni savetnik**

Univerzitet u Beogradu

Institut za higijenu i tehnologiju mesa

Datum odbrane doktorske disertacije: \_\_\_\_\_

# Uticaj dodatka vrganja (*Boletus edulis*), lisičarke (*Cantharellus cibarius*) i crne trube (*Craterellus cornucopioides*) na ukupan kvalitet barenih kobasica u tipu frankfurtera

## REZIME

Frankfurteri predstavljaju najčešći tip emulgovanih proizvoda od mesa koji se može kupiti u celom svetu. Različite recepture u izradi kobasica u tipu frankfurtera, kao i visoke temperature tokom proizvodnje i različiti uslovi skladištenja, najčešći su uzročnici različitih hemijskih, mikrobioloških i senzorskih promena. Da bi se izbegle nepoželjne promene, kobasicama se dodaju komercijalni aditivi, međutim, zbog svog toksičnog dejstva dokazanog u različitim studijama, kao i zbog preferencija potrošača za pronalaskom aditiva iz prirodnih izvora, tržište industrije mesa sve se više okreće ka upotrebi prirodnih aditiva, a najčešće antioksidanasa prirodnog porekla.

Cilj ove doktorske disertacije bio je da se ispituju antioksidativne i antimikrobne karakteristike komercijalnih gljiva koje se često konzumiraju u Srbiji, a kojima se najčešće trguje: vrganja (*Boletus edulis*), lisičarke (*Cantharellus cibarius*) i crne trube (*Craterellus cornucopioides*), te uticaj njihovog dodatka na ukupan kvalitet fino usitnjenih barenih kobasica u tipu frankfurtera.

Na osnovu dobijenih podataka, najbolje antioksidativne karakteristike dekokta pokazao je *Boletus edulis*, a nešto slabije *Craterellus cornucopioides* i *Cantharellus cibarius*. Sumirajući rezultate metoda koje na različite načine mere antioksidativnu sposobnost frankfurtera sa dodatim gljivama, isti trend dobijen je kao i prilikom testiranja dekokta, prvenstveno jer su najveće količine ukupnih fenola nađene u frankfurterima sa dodatim *Boletus edulis*, a takođe su bile najduže stabilne tokom skladištenja.

Osnovni hemijski sastav frankfurtera sa dodatim gljivama pretrpeo je samo blage izmene, i to u pravcu smanjenja masti i povećanja sadržaja ukupnih proteina, pa se može zaključiti da je dodatak dekokta gljiva rezultovao promenama koje su najčešće predmet težnje savremene industrije mesa.

Teksturalni profil kobasica sa dodatim gljivama blago se promenio, i to u smeru koji najviše odgovara poboljšanju tehnoloških karakteristika – dodatkom proteina iz gljiva, kobasice su postale nešto čvršće i žvakljivije, a bile su i stabilne tokom dva meseca skladištenja, što govori o dobrim emulgujućim osobinama korišćenih sirovina i dobroj stabilnosti finalnog proizvoda.

Dodatak dekokta gljiva rezultovao je blagom promenom boje finalnog proizvoda, dok je najveća razlika uočena u frankfurterima sa dodatkom *Craterellus cornucopioides*. Sličan trend dobijen je i za parametre senzorske prihvatljivosti proizvoda. Kobasice sa dodatkom *Boletus edulis* i *Cantharellus cibarius* nisu se značajnije razlikovale od kontrolnog uzorka, čak su pojedini senzorski atributi bili bolje ocenjeni od kontrolnog uzorka, dok su frankfurteri sa dodatkom *Craterellus cornucopioides* dobili značajno manje ocene.

Dodatak ove tri gljive kao prirodnih aditiva pokazao se dobrim u očuvanju bezbednosti i kvaliteta kobasica u tipu frankfurtera tokom dva meseca skladištenja, pokazavši određena poboljšanja kvaliteta finalnog proizvoda, pa se zbog relativno niske cene koštanja i povoljnih zdravstvenih osobina gljiva može razmišljati o potencijalnoj aplikaciji ove vrste ekstrakta i u industrijskim okvirima.

**Ključne reči:** *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Craterellus cornucopioides*, dekokt, antioksidans, antimikrobni efekat, kvalitet, frankfurter.

**Naučna oblast:** Biotehničke nauke

**Uža naučna oblast:** Nauka o mesu

**UDK:** 635.8:637.524(043.3)

# **The impact of the addition of porcini (*Boletus edulis*), chanterelle (*Cantharellus cibarius*) and horn of plenty (*Craterellus cornucopioides*) on the overall quality of cooked sausages in the type of frankfurters**

## **ABSTRACT**

Frankfurters are the most common type of emulsified meat product that can be bought all over the world. Different recipes in the production of frankfurter-type sausages, as well as high temperatures during production and different storage conditions, are the most common causes of various chemical, microbiological and sensory changes. To avoid undesirable changes, commercial additives are added to sausages, however, due to their toxic effect proven in various studies, as well as due to consumer preferences for finding additives from natural sources, the meat industry market is increasingly turning to the use of natural additives - antioxidants of natural origin.

This doctoral dissertation aimed to examine the antioxidant and antimicrobial characteristics of commercial mushrooms that are often consumed in Serbia, and which are most commonly traded: porcini (*Boletus edulis*), chanterelle (*Cantharellus cibarius*) and horn of plenty (*Craterellus cornucopioides*), and the impact of their addition on the overall quality of finely chopped cooked sausages in the frankfurter type.

Based on the obtained data, the best antioxidant characteristics of the decoction were shown by *Boletus edulis*, and somewhat weaker by *Craterellus cornucopioides* and *Cantharellus cibarius*. Summarizing the results of methods that measure the antioxidant capacity of frankfurters with added mushrooms in different ways, the same trend was obtained as when testing decoctions, primarily because the largest amounts of total phenols were found in frankfurters with added *Boletus edulis*, and were also the longest stable during storage.

The proximate composition of frankfurters with added mushrooms has undergone only slight changes, in the direction of reducing fat and increasing the content of total proteins, so it can be concluded that the addition of mushroom decoction resulted in changes that are most often the subject of interest of the modern meat industry.

The textural profile of sausages with added mushrooms has changed slightly, in the direction that best suits the improvement of technological characteristics - with the addition of protein

from mushrooms, sausages have become slightly firmer and chewier, and were stable during two months of storage, which indicates good emulsifying properties of the materials used and good stability of the final product.

The addition of a mushroom decoction resulted in a slight change in the color of the final product, while the largest difference was observed in frankfurters with the addition of *Craterellus cornucopioides*. A similar trend was obtained for the sensory acceptability parameters of the product. Sausages with the addition of *Boletus edulis* and *Cantharellus cibarius* did not differ significantly from the control sample, even some sensory attributes were better evaluated than the control sample, while frankfurters with the addition of *Craterellus cornucopioides* received significantly lower scores.

The addition of these three mushrooms as natural additives proved to be good in maintaining the safety and quality of frankfurter-type sausages during two months of storage, showing some improvements in the quality of the final product, so due to the relatively low cost and favorable health properties of mushrooms, the potential application of this type of extract in the meat industry can also be considered.

**Key words:** *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Craterellus cornucopioides*, decoction, antioxidant, antimicrobial effect, overall quality, frankfurter.

**Academic expertise:** Biotechnology

**Field of Academic Expertise:** Meat Science

**UDC:** 635.8:637.524(043.3)

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	3
2.1. Istorijat proizvodnje barenih kobasica i Pravilnik o kvalitetu usitnjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa .....	3
2.2. Sastav fino usitnjenih barenih kobasica .....	3
2.3. Tehnološki proces proizvodnje i održivost fino usitnjenih barenih kobasica .....	4
2.4. Gljive kao prirodni izvori potencijalnih antioksidativnih i antimikrobnih komponenti ..	7
2.5. Odabrane vrste gljiva .....	9
2.5.1. Opšte karakteristike gljive <i>Boletus edulis</i> .....	10
2.5.2. Opšte karakteristike gljive <i>Cantharellus cibarius</i> .....	10
2.5.3. Opšte karakteristike gljive <i>Craterellus cornucopioides</i> .....	11
2.6. Mehanizam antioksidativnog delovanja.....	12
3. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	15
4. MATERIJAL I METOD .....	17
4.1. Hemikalije .....	17
4.2. Priprema uzoraka dekokta gljiva.....	17
4.3. Proizvodnja frankfurtera .....	17
4.4. Antioksidativni efekat dekokta gljiva .....	18
4.4.1. DPPH metod .....	18
4.4.2. ABTS metod .....	19
4.4.3. Sposobnost redukcije jona gvožđa (FRAP).....	19
4.4.4. Sposobnost redukcije jona bakra (CUPRAC) .....	20
4.4.5. Ispitivanje antioksidativnih svojstava ekstrakata konjugen dienskom metodom...20	
4.4.6. Određivanje antioksidativne aktivnosti metodom izbeljivanja $\beta$ -karotena .....	20
4.5. Antimikrobni kapacitet dekokta gljiva.....	21
4.6. Metoda određivanja ukupnih fenola.....	21
4.7. Metode za određivanje antioksidativnih karakteristika frankfurtera.....	22
4.7.1. Antioksidativna svojstva frankfurtera merena ABTS metodom .....	22
4.7.2. Sadržaj malondialdehida (TBARS test) .....	22
4.8. Određivanje osnovnog hemijskog sastava frankfurtera .....	22
4.9. Instrumentalno merenje boje frankfurtera pomoću kompjuterskog vizuelnog sistema (CVS) .....	22
4.10. Merenje pH vrednosti frankfurtera.....	23



4.11. Instrumentalno merenje teksture primenom analize teksturalnog profila (TPA) i „Warner-Bratzler Shear Force“ (WBSF) testa .....	23
4.12. Mikrobiološke analize frankfurtera .....	24
4.13. Procena senzorske prihvatljivosti proizvoda .....	24
4.14. Statistička obrada podataka .....	24
5. REZULTATI I DISKUSIJA .....	25
5.1. Boletus edulis – antioksidativni i antimikrobni potencijal i uticaj dodatka ove vrste gljive na kvalitet frankfurtera .....	25
5.1.1. Antioksidativne karakteristike dekokta B. edulis in vitro .....	25
5.1.2. Antimikrobni efekat dekokta B. edulis in vitro .....	31
5.1.3. Ukupan sadržaj fenolnih komponenti .....	32
5.1.4. Antioksidativne karakteristike frankfurtera sa dodatkom Boletus edulis .....	34
5.1.5. Osnovni hemijski sastav, instrumentalno određivanje boje i promene pH vrednosti .....	36
5.1.6. Instrumentalno merenje teksture primenom analize teksturalnog profila (TPA) i “Warner-Bratzler Shear Force” testa (WBSF) .....	37
5.1.7. Mikrobiološki profil .....	40
5.1.8. Procena senzorske prihvatljivosti proizvoda .....	41
5.1.9. Zaključak .....	42
5.2. Cantharellus cibarius - antioksidativni i antimikrobni potencijal i uticaj dodatka ove vrste gljive na kvalitet frankfurtera .....	43
5.2.1. Antioksidativne karakteristike dekokta C. cibarius in vitro .....	43
5.2.2. Antimikrobni efekat dekokta C. cibarius in vitro .....	48
5.2.3. Ukupan sadržaj fenolnih komponenti .....	49
5.2.4. Antioksidativne karakteristike frankfurtera sa dodatkom Cantharellus cibarius .....	50
5.2.5. Osnovni hemijski sastav, instrumentalno merenje boje i promena pH vrednosti .....	52
5.2.6. Instrumentalno merenje teksture primenom analize teksturalnog profila (TPA) i “Warner-Bratzler Shear Force” testa (WBSF) .....	54
5.2.7. Mikrobiološki profil .....	55
5.2.8. Procena senzorske prihvatljivosti proizvoda .....	56
5.2.9. Zaključak .....	57
5.3. Craterellus cornucopioides - antioksidativni i antimikrobni potencijal i uticaj dodatka ove vrste gljive na kvalitet frankfurtera .....	58
5.3.1. Antioksidativne karakteristike dekokta C. cornucopioides in vitro .....	58
5.3.2. Antimikrobni efekat dekokta C. cornucopioides in vitro .....	63
5.3.3. Ukupan sadržaj fenolnih komponenti .....	64

5.3.4. Antioksidativne karakteristike frankfurtera sa dodatkom <i>Craterellus cornucopioides</i> .....	65
5.3.5. Osnovni hemijski sastav, instrumentalno merenje boje i promena pH vrednosti ..	67
5.3.6. Instrumentalno merenje teksture primenom analize teksturalnog profila (TPA) i “Warner-Bratzler Shear Force” testa (WBSF) .....	69
5.3.7. Mikrobiološki profil .....	72
5.3.8. Procena senzorske prihvatljivosti proizvoda .....	72
5.3.9. Zaključak .....	74
6. LITERATURA .....	76
PRILOG .....	90
BIOGRAFIJA KANDIDATA .....	96
Izjava o autorstvu .....	97
Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije.....	98
Izjava o korišćenju .....	99

## 1. UVOD

Meso ima veliki značaj u ishrani ljudi jer predstavlja visoko hranljivi izvor proteina, uključujući esencijalne amino-kiseline, esencijalne masne kiseline i kompleks B-vitamina, a pre svega vitamin B<sub>12</sub>, kao i mnoge druge minerale poput gvožđa, cinka i selena. Pored mesa, širom sveta konzumiraju se i kobasice, prvenstveno zbog njihove pogodnosti za pripremu i zbog željenih profila ukusa koje pružaju (Leroy i Degreeef, 2015). Sa rastućim zahtevima tržišta za sve većim potrebama za hranom koja je već spremna za konzumiranje (engl. RTE – „ready-to-eat“) i globalizacijom, sve je veća zabrinutost i za njenu bezbednost i kvalitet. Frankfurteri predstavljaju najčešći tip emulgovanih proizvoda od mesa u celom svetu (Fernández-López i sar., 2019), a što se tiče prerađivačke industrije mesa u Srbiji, barene kobasice čine polovinu od ukupne industrijske proizvodnje u našoj zemlji (Šojić i sar., 2011).

Različiti sastojci kobasica u tipu frankfurtera, kao i visoke temperature tokom procesa proizvodnje i uslovi čuvanja, uzrokuju različite hemijske, mikrobiološke i senzorske promene. Proizvodi od mesa, a isto tako i frankfurteri izloženi su kontaminaciji bakterijama i plesnima, koje mogu da izazovu neželjene reakcije, a koje se mogu odraziti promenama mirisa i ukusa, boje, kao i senzorskim i teksturalnim promenama.

Oksidacija lipida spada među najznačajnije promene koje narušavaju kvalitet finalnog proizvoda tokom proizvodnje i skladištenja. Najčešće se oksidacija lipida odvija na nezasićenim masnim kiselinama membranskih fosfolipida, a kao rezultati ovih neželjenih promena javljaju se hidroperoksidi i njihovi sekundarni produkti, uzročnici nepoželjnog mirisa i ukusa proizvoda od mesa (Maqsood i Benjakul, 2011). Da bi se inhibirao rast nepoželjne mikroflore i redukovala oksidacija lipida, u proizvode od mesa dodaju se komercijalni aditivi. Međutim, dobro je poznato toksično dejstvo pojedinih komercijalnih aditiva (Karre i sar., 2013; Shah i sar., 2014), te stoga raste interesovanje za primenom aditiva koji vode poreklo iz prirodnih izvora. Da bi se inhibirao rast neželjenih mikroorganizama i redukovala oksidacija lipida kod RTE proizvoda, antioksidativne bioaktivne komponente mogu se dodavati u proizvodne recepture, premazivati površine proizvoda ili inkorporirati u ambalažni materijal (Nikmaram i sar., 2018). U ovom kontekstu, biljni ekstrakti privlače veliku pažnju istraživača zbog njihovog potencijalnog antioksidativnog i antimikrobnog potencijala, jer su generalno prepoznati kao bezbedni za upotrebu (engl. GRAS – „Generally Recognized as Safe“), a ne izazivaju neželjene promene senzorskih karakteristika (npr. boje, mirisa, ukusa), dodaju se u malim koncentracijama i obično su kompatibilni sa proizvodima u koje se dodaju, a mogu se jednostavno aplicirati. Pored toga, stabilni su tokom dužeg vremenskog perioda i pre svega ekonomični (Nikmaram i sar., 2018). Među prirodne materijale sa dokazanim antioksidativnim i antimikrobnim efektima ubrajaju se i jestive gljive. Naime, dokazano je da jestive gljive taj svoj

efekat ostvaruju najviše zahvaljujući fenolnim jedinjenjima koja se nalaze u njima (Ferreira i sar., 2009).

Jestive gljive, sveže ili osušene, sadrže značajnu količinu biološki vrednih jedinjenja sa tehnološkog i nutritivnog stanovišta (proteini, fenoli, pojačivači ukusa, esencijalne amino-kiseline, polisaharidi,  $\beta$ -glukani, vitamini i minerali (Djekic i sar., 2017; Rathore i sar., 2017). Stoga, između ostalog, jestive gljive predstavljaju i potencijalni izvor prirodnih antioksidanasa koji mogu biti inkorporirani u različitu hranu. Ovaj potencijal gljiva dosad je prepoznat među nekoliko grupa istraživača; *Lentinus edodes* dodavana je u frankfurtere i fermentisane kobasice (Pil-Nam i sar., 2015; Van Ba i sar., 2016), kao i *Agaricus bisporus* u mleveno goveđe meso (Alnoumani i sar., 2017), ali dosad nije dostupna nijedna studija o dodatku *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius* i *Craterellus cornucopioides* u barene kobasice.

Stoga, ovo istraživanje ima za cilj da ispita antioksidativne i antimikrobne karakteristike *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius* i *Craterellus cornucopioides in vitro*, te njihovu primenu u kobasicama u tipu frankfurtera, kako bi se utvrdio uticaj ovih gljiva na ukupan kvalitet fino usitnjenih barenih kobasica u tipu frankfurtera tokom skadištenja.

## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Istorijat proizvodnje barenih kobasica i Pravilnik o kvalitetu usitnjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa

Prema dostupnim podacima, barene kobasice su proizvodi iz relativno novijeg industrijskog doba. Smatra se da je prva barena kobasica koja je proizvedena u svetu, delo bečkog mesara Georga Lahnera iz 1805. godine i nazvana je *bečka viršla* (*Wiener Wurtchen*), te se smatra pretečom današnjih kobasica u tipu frankfurtera (Vuković, 2012).

Barene kobasice su proizvodi od mesa koje kao osnovu u nadevu sadrže mesno testo i konzervišu se pasterizacijom. Na osnovu stepena usitnjenosti nadeva, barene kobasice dele se na fino usitnjene barene kobasice, grubo usitnjene barene kobasice i barene kobasice sa komadima mesa. Prema postupku proizvodnje, kao i prema sastavu, barenim kobasicama pripadaju i mesni hlebovi (Vuković, 2012).

Prema Pravilniku o kvalitetu mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa (Službeni Glasnik RS, 50/19, 2019), kobasice u tipu frankfurtera spadaju u fino usitnjene barene kobasice. Ove kobasice dobijaju se od svinjskog mesa koje je fino usitnjeno, a kod proizvoda sa dodatkom kockica masnog tkiva, sira i hrane biljnog porekla ovi sastojci mogu biti vidljivi.

Fino usitnjene barene kobasice u proizvodnji i prometu moraju da ispunjavaju sledeće zahteve kvaliteta:

- 1) jedre su, sočne i pod lakim pritiskom ne otpuštaju tečnost,
- 2) nemaju oštećenja, veće nabore i deformacije,
- 3) nadev je homogen, ujednačene i stabilne boje i nema izdvojenog želea i masti,
- 4) omotač prileže uz nadev,
- 5) prijatnog su i svojstvenog mirisa i ukusa,
- 6) ako to nije drugačije propisano ovim pravilnikom, sadržaj proteina mesa u frankfurterima je najmanje 11% i sadržaj kolagena u proteinima mesa najviše do 20% (Službeni Glasnik RS, 50/19, 2019).

### 2.2. Sastav fino usitjenih barenih kobasica

SIROVINE I DODACI. Fino usitnjene barene kobasice proizvode se od mesa, masnog tkiva, kuhinjske soli i soli za salamurenje, aditiva, začina, vode i drugih sastojaka. Što se tiče same proizvodnje barenih kobasica, potrebno je obezbediti da meso, soli, voda i masno tkivo budu usitnjeni i raspoređeni tako da proizvod bude stabilan tokom toplotnog tretmana. Ta stabilnost nadeva barenih kobasica postiže se vezivanjem vode i emulgovanjem masti, za šta najveći doprinos daju proteini

miofibrila. Naime, tokom usitnjavanja u kuteru, dolazi do njihovog oslobađanja iz mišićnih vlakana, reakcije sa solima, vezivanja vode te migracije u koloidni rastvor, čime se postiže baza za izgradnju mesne emulzije, a samim tim i nadeva barenih kobasica (Vuković, 2012).

MESO. Vrlo bitna stvar u proizvodnji barenih kobasica je upotreba mesa koje dobro vezuje vodu, a to je pre svega meso bikova. Međutim, danas se barene kobasice sa uspehom prave i od mesa svinja i živine. Najbolja sposobnost vezivanja vode kod mesa je odmah nakon procesa klanja, odnosno pre pojave mrtvačke ukočenosti (postmortalnog *rigor mortis*-a), dok meso ima visoku pH vrednost. Dobra sposobnost vezivanja vode kod prerigoralnog mesa može se očuvati usoljavanjem, mlevenjem mesa rano *post mortem*, te mešanjem sa 2-4% kuhinjske soli, čime miofibrilarni proteini zadržavaju visok stepen hidracije (Vuković, 2012).

MASNO TKIVO. U izradi ovog tipa kobasica koristi se čvrsto masno tkivo (ČMT) svinja, koje ima osobine lakog sečenja tokom usitnjavanja i težeg otapanja tokom postupaka obrade i zagrevanja. ČMT treba ohladiti kako bi došlo do kristalizacije masti i zaustavljanja mikrobnih i tkivnih lipaza. U proizvodnji fino usitnjenih barenih kobasica, količina ČMT iznosi do 30% (Vuković, 2012).

### **2.3. Tehnološki proces proizvodnje i održivost fino usitnjenih barenih kobasica**

Osnovu nadeva fino usitnjenih barenih kobasica čini mesno testo, koje se u osnovi naziva prat i znači testo i nadev. Mesne emulzije, često nazivane i mesno testo, jesu multifazni, kompleksni sistemi sačinjeni od fino sečenih ili samlevenih masnih delova, ekstrahovanih proteina i različitih nerastvorljivih supstanci, kao što su mišićna vlakna, vlaknasti fragmenti, miofibrili, kolageni fibrili i nemesni proteini (Feiner, 2006). Karakteristični primeri mesnih emulzija su frankfurteri i viršle. Kapljice masti kod frankfurtera su obično veličine 1 do 50  $\mu\text{m}$  u prečniku, i imobilisane su u proteinskom matriksu. Ciljevi svih proizvođača barenih kobasica su identični – potrebno je dobiti što više solubilizovanih proteina, jer solubilizovani proteini vezuju dodatnu vodu i emulguju mast u isto vreme. Naime, solubilizovani proteini formiraju tanki sloj oko fino usitnjenih masnih globula i samim tim onemogućavaju izdvajanje masti tokom toplotnog tretmana. Što je ovaj proteinski sloj deblji, to je i stabilnost same emulzije veća (Feiner, 2006). U solubilizovanim ili aktivisanim proteinima, veću tendenciju ka emulgovanju masti pokazuje miozin, u odnosu na aktin, a takođe i veći afinitet prema vodi. Tokom toplotnog tretmana, sloj proteina koji okružuje čestice masti denaturiše, a mast ostaje zadržana unutar proteinskog sloja, te dolazi do formiranja trodimenzionalnog matriksa. Takođe, ova mreža proteina predstavlja barijeru česticama masti u unifikovanju sa drugim masnim globulama. Važno je istaći da slano-rastvorljivi proteini kao što su aktin i miozin imaju veći kapacitet emulgovanja masti u odnosu na proteine rastvorljive samo u vodi (Feiner, 2006).

Količina solubilizovanih proteina prvenstveno zavisi od sadržaja proteina u sirovini koja se koristi prilikom proizvodnje kobasica, a takođe i od aditiva koji se koriste. Aditivi kao što su fosfati i soli za salamurenje igraju glavnu ulogu u poboljšanju sposobnosti vezivanja vode. So povećava jonsku jačinu rastvora, koja maksimalnu vrednost (1) dostiže dodatkom 5% kuhinjske soli, odnosno najveću količinu solubilizovanih proteina, te kao što je već pomenuto, ostvaruje najveći emulgujući kapacitet i ima najveću sposobnost vezivanja vode (Vuković, 2012).

Pored toga, za postizanje dobre mesne emulzije, nadev je potrebno usitnjavati u kuteru dovoljno vremena, sve dok čestice masti u nadevu postanu nevidljive, a samim tim osiguravamo da je maksimalna količina proteina iz nadeva solubilizovana/ekstrahovana. Nekoliko interakcija koje se dešavaju u mesnim emulzijama su od izuzetnog značaja, te ih treba spomenuti. Glavne interakcije jesu protein-voda, protein-mast i protein-protein interakcije. U tehnološkom smislu, od najvećeg značaja su interakcije protein-voda, zato što te interakcije imaju najjači uticaj na solubilizaciju proteina, kao i na zadržavanje vezane vode (Xiong, 2007).

Makroskopski, čestice masti, u formi globula koje sadrže proteinski omotač uklopljene su u proteinski matriks i stabilizovane trodimenzionalnom gel strukturom (Xiong, 2007). U sklopu proteinskog matriksa nalazi se velika količina vode koja je imobilisana kapilarnim efektima. Istovremeno prisustvo različitih rastvorljivih i nerastvorljivih sastojaka u emulziji čini je lepljivom, polučvrstom pastom, te otuda dolazi naziv mesno testo. Stoga, veoma je važno napraviti razliku između mesne emulzije i klasične ulje-u-vodi emulzije. Ovaj drugi tip emulzije, koji ima visoku sposobnost tečenja, predstavlja sistem gde su kapljice ulja stabilizovane amfoternim surfaktantima koji se nazivaju emulgatori, koji su dispergovani u čistoj ili homogenoj vodenoj fazi. Formiranje proteinske membrane i proteinskog gel matriksa tokom finog usitnjavanja dovodi do smanjenja ukupne slobodne energije, te formiranja stabilnijeg mesnog testa. Termin „vezivanje“ za usitnjene mesne emulzije je stoga usvojen i objašnjava imobilisajući efekat na komponente mesa, posebno na masno tkivo i vodu, a pomoću proteina i proteinskog matriksa (Xiong, 2007).

Fizičko-hemijske karakteristike i stabilnost mesnih emulzija su pod uticajem različitih unutrašnjih (svojstvenih) i proizvodnih faktora. Na primer, kvalitet mesa, pH, jonska jačina (sadržaj soli), sadržaj fosfata, odnos masnog tkiva i miofibrilarnih proteina, kao i nemesnih sastojaka (proteina soje, kazeina itd.) su samo neki od važnih faktora. Vreme kuterovanja, temperatura mesne emulzije i odnos temperature barenja takođe imaju snažan uticaj na kvalitet i stabilnost emulzije. Jasno razumevanje fizičko-hemijske prirode mesnih emulzija, kao i principa njihove pripreme, jedna je od najkritičnijih stvari u proizvodnji visoko kvalitetnih i stabilnih fino usitnjenih barenih kobasica (Xiong, 2007).

Nakon izrade mesnih emulzija, sledeća operacija u proizvodnji ovog tipa kobasica jeste punjenje u omotače (prirodne ili veštačke). Omotači moraju da budu dobro popunjeni, da maksimalno priležu uz nadev i da se spreči ulazak vazduha. Prilikom punjenja potrebno je voditi računa o pritisku, kao i o viskozitetu kobasica, jer će tokom procesa barenja doći do povećanja zapremine nadeva usled bubrenja. S tim u vezi, prilikom punjenja ovog tipa kobasica koristi se manji pritisak za razliku od pritiska punjenja drugih vrsta kobasica (Joksimović, 1978).

Posle punjenja, klipsiranja ili vezivanja, kobasice se kače na štapove, koji su raspoređeni na odgovarajuće ramove i ostavljaju određeno vreme zbog ceđenja. Nakon ceđenja, sledeća operacija je operacija dimljenja i toplotne obrade. Kobasice koje se pune u propustljive omotače, dime se do zlatno-mrke boje. Ova vrsta dimljenja podrazumeva toplo dimljenje, gde je temperatura tokom dimljenja 75-80 °C. Što se tiče relativne vlažnosti vazduha u komori, potrebno je da se postigne vrednost od 65-75%. Dimljenje je vrlo bitno zato što omogućuje karakteristična senzorska svojstva za kobasicu, a u kombinaciji za toplotnim tretmanom pojačava i konzervišući efekat (Vuković, 2012).

Nakon dimljenja, potrebno je izvršiti toplotnu obradu kobasica režimom pasterizacije, koja se odvija u vlažnoj sredini i na temperaturi 70-80 °C, a u zavisnosti od prečnika same kobasice. Barenjem se postiže koagulacija proteina, koja direktno utiče na transformaciju meke mesne emulzije u čvrsti kobasičarski proizvod. Takođe, pasterizacijom se uništavaju vegetativne forme mikroorganizama, međutim, ovaj temperaturni režim nije dovoljan da uništi sve mikroorganizme (pre svega sporogene mikroorganizme), te se barene kobasice čuvaju na temperaturi do 4 °C i imaju ograničen rok upotrebe (Vuković, 2012).

Što se tiče mikroflore fino usitnjenih barenih kobasica, nadev kobasica je kontaminiran raznovrsnim mikroorganizmima, a njihov broj neretko dostiže i  $10^7$  cfu/g (colony forming unit – broj ćelija koje formiraju koloniju/g). Nakon toplotne obrade, taj broj opada obično do vrednosti  $10^4$  cfu/g, a nekad i na manje od  $10^3$  cfu/g, što najčešće zavisi od inicijalne kontaminacije sirovine korišćene prilikom izrade nadeva (Vuković, 2012).

Nakon toplotnog tretmana sledi tuširanje hladnom vodom, a posle ceđenja hlađenje i skladištenje u rashladnoj komori. Prilikom brzog hlađenja fino usitnjenih barenih kobasica dolazi do onemogućavanja klijanja spora bakterija iz familije Bacillaceae, koje prežive toplotnu obradu. Takođe, potrebno je napomenuti da kobasice treba skladištiti u suvim prostorijama, kako bi se onemogućilo razvijanje plesni na površini. Duža održivost kobasica ostvaruje se pakovanjem u vakuumu ili u modifikovanoj atmosferi (Vuković, 2012). Nakon završenog tehnološkog postupka proizvodnje, kod nekih kobasica mogu da budu prisutne i Micrococaceae, zatim *Brochotrix thermosphacta*, *Streptococcus faecalis*, kao i predstavnici rodova *Bacillus* i *Lactobacillus*. Kvar fino



usitnjenih barenih kobasica javlja se kao: sluzavost, kišeljjenje, plesnivost i sluzavost površine (Vuković, 2012).

Pored mikrobioloških promena koje izazivaju kvar proizvoda, tu su i oksidativne promene. Užeglost proizvoda od mesa ogleđa se u značajnom gubitku nutritivnih (gubitak vitamina i esencijalnih amino-kiselina) i senzorskih karakteristika (boja, tekstura i ukus), a takođe i smanjenjem roka trajanja (Aguirrezábal i sar., 2000). Autooksidacija lipida uzrokuje pojavu potencijalno toksičnih jedinjenja kao što su slobodni radikali, hidroksiperoksidi, malondialdehidi, koji mogu da prouzrokuju niz negativnih bioloških efekata u živoj ćeliji, kao što su inhibicija biosinteze holesterola, citotoksičnost, mutagene i kancerogene efekte (Lee i Kunz, 2005). Zbog ovih negativnih efekata, pojačan je interes u kontroli oksidacije lipida u mesnim prerađevinama, upotrebom sintetičkih, kao i antioksidanasa koji vode poreklo iz prirodnih izvora (Deda i sar., 2007; Özvural i Vural, 2011). Međutim, sintetički antioksidansi su potencijalno opasni jer postoje objavljeni naučni podaci koji govore o tome da su toksični i da izazivaju promene koje negativno utiču na zdravlje potrošača, te im je upotreba u prehrambenoj industriji limitirana (Botterweck i sar., 2000). Pored toga, sintetički antioksidansi su skupi, a mogu izazvati i neželjene promene na finalnim proizvodima tokom upotrebe, koje se ogledaju u promeni boje i lošijim senzorskim karakteristikama (Pokorný, 1991). Stoga, javlja se i potreba za prepoznavanjem adekvatnih antioksidanasa iz alternativnih, prirodnih i bezbednih izvora, a potraga za prirodnim antioksidansima, prvenstveno biljnog porekla, značajno je porasla poslednjih godina (Škerget i sar., 2005).

#### ***2.4. Gljive kao prirodni izvori potencijalnih antioksidativnih i antimikrobnih komponenti***

Prema Chang i Miles (1992) „gljive su makrogljive sa karakterističnim plodonosnim telom, koje može biti i epigeično (raste iznad zemlje) ili hipogeično (rastu ispod zemlje; kao npr. tartufi) i dovoljno veliko da se može videti golim okom“. Gljive koje se upotrebljavaju za ishranu ljudi cenjene su po njihovom izvrsnom ukusu, ekonomskoj i ekološkoj vrednosti, kao i izuzetnim lekovitim osobinama poznatim hiljadama godina (Bishop i sar., 2015). Generalno gledano, gljive se sastoje od 90% vode i 10% suve materije (Sánchez, 2010). Takođe, one imaju hemijski sastav koji je veoma privlačan sa nutritivnog stanovišta (Dundar i sar., 2008). Gljive sadrže mnoštvo vitamina (tiamin, riboflavin, askorbinska kiselina, niacin i ergosterol) kao i obilje esencijalnih amino-kiselina, a nizak sadržaj masti čini ih veoma pogodnom hranom sa smanjenim sadržajem kalorija (Kozarski i sar., 2015). Takođe sadrže i proteine, masti, mineralne materije i glikozide (Sánchez, 2017), isparljiva jedinjenja, tokoferole, fenolna jedinjenja, flavonoide, karotenoide, organske kiseline, folate itd. (Patel i Goyal, 2012). Pored toga, imaju nizak glikemijski indeks, kao i visok sadržaj manitola, što ih čini pogodnom hranom za dijabetičare (Kozarski i sar., 2015). Pored antioksidativnih karakteristika, gljive privlače veliku pažnju i zbog drugih bioloških aktivnosti, kao što su antitumorna,

antiokoagulišuća, antidijabetska, imunostimulišuća i imunološka svojstva, što ih čini pogodnim za upotrebu i u medicinske svrhe (Kozarski i sar., 2015).

Antioksidativna svojstva uglavnom potiču od fenolnih jedinjenja u gljivama (Ferreira i sar., 2009). Polifenoli su najzastupljeniji antioksidansi u ishrani (Scalbert i sar., 2005). Istraživanje o efektu konzumiranja polifenola na zdravlje ljudi značajno je razvijeno u poslednjih 25 godina. Jedna od najvećih poteškoća u razumevanju tačnog mehanizma uticaja polifenola na zdravlje jeste veliki broj fenolnih jedinjenja pronađenih u hrani (Scalbert i sar., 2005; Vujovic i sar., 2016), a svi oni pokazuju različite biološke aktivnosti (Kuntz i sar., 1999).

Ova jedinjenja mogu se klasifikovati u različite grupe, kao funkcija broja fenolnih prstenova i strukturnih grupa koje vezuju ove prstenove. Uzimajući u obzir ove karakteristike, polifenoli obuhvataju fenolne kiseline, flavonoide, stilbene i lignane. U zavisnosti od rasprostranosti, većina polifenola prisutna je u hrani u obliku estara, glikozida ili polimera (Manach i sar., 2004).

Glavne fenolne komponente pronađene u gljivama jesu fenolne kiseline (Ferreira i sar., 2009). Fenolne kiseline mogu biti podeljene u dve glavne grupe: hidroksibenzojeve kiseline i hidroksicinamične kiseline, koje su izvedene od nefenolskih molekula benzojeve i cinamične kiseline, redom (Ferreira i sar., 2009; Manach i sar., 2004). Prirodna jedinjenja polifenola doprinose njihovom antioksidativnom efektu hvatajući slobodne radikale i/ili pospešuju endogeni antioksidativni kapacitet (Kozarski i sar., 2015).

Pored antioksidativnog efekta, gljive kao dodaci mogu i da produže rok trajanja proizvodima od mesa (Munekata i sar., 2020). Kao jedno od bioloških svojstava interesantno je i antimikrobno delovanje gljiva. S obzirom na staništa na kojima žive, gljivama su potrebne različite vrste antibiotika kako bi se održale i razmnožavale (Vetter, 2019). Naime, u poslednje vreme javlja se sve veći problem sa otpornošću mikroorganizama na antibiotike pa se zbog toga sve više ispituju antimikrobne supstance iz različitih vrsta biljaka i gljiva, koje bi imale potencijalnu sposobnost mobilizacije humoralnog imunog sistema (Kozarski, 2012). Ova antimikrobna jedinjenja pripadaju različitim jedinjenjima: terpenima, steroidima, saponinima, kumarinima, alkaloidima (Anil i sar., 2000). Iako je do sada opisano preko 140000 vrsta gljiva, među njima je samo oko 2000 vrsta jestivih, odnosno 158 vrsta sa dokazanim antimikrobnim karakteristikama (Shen i sar., 2017). Ekstrakti gljiva dobijeni od plodonosnog tela i od micelijuma najčešće su korišćeni za testiranje antimikrobnih karakteristika (Shen i sar., 2017). Antibakterijski produkti gljiva mogu biti njihovi intraćelijski i/ili ekstraćelijski metaboliti. Najznačajniji antibiotici dobijeni iz gljiva su: penicilin, streptomycin, hloramfenikol i vankomicin (Griffin, 1996). Dokazano je da metabolit gljive *Mycetinis scorodonius*, skorodonin, u većim koncentracijama inhibira rast Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija (Anke i sar., 1980).

Iz gljive *Marasmius conigenus* izolovana je marasminska kiselina koja ima antibakterijska, antifungalna, citotoksična i fitotoksična svojstva. Među prvim antibioticima izolovanim iz gljive *Pycnoporus sanguines* bio je cinabarin, a njegova antibakterijska aktivnost testirana je na 11 bakterijskih vrsta izolovanih iz prehrambenih proizvoda. Najosetljivije bakterije na ovaj antibiotik bile su *Bacillus cereus* i *Leuconostoc plantarum*, dok je najrezistentnija bakterija bila *Klebsiella pneumoniae* (Smânia i sar., 1998). Za gljivu *Armillariella mellea* dokazano je da poseduje antibakterijsko dejstvo *in vitro* na patogene bakterije *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, a armilarinska kiselina, koja je izolovana iz ove vrste gljiva, inhibira Gram-pozitivne bakterije i kvasce (Obuchi i sar., 1990).

Upotreba gljiva sa dokazanim prirodnim antimikrobnim svojstvima u svrhu dobijanja bezbednih prehrambenih proizvoda porasla je značajno u poslednjoj deceniji (Alves i sar., 2012; Gao i sar., 2005; Zjawiony, 2004). Gljive, odnosno njihovi ekstrakti sa antimikrobnim jedinjenjima mogu biti direktno dodavani hrani kao konzervansi, u cilju produžetka roka trajanja finalnog proizvoda inhibišućim efektom koje imaju na bakterije uzročnike kvara hrane. Ovaj efekat antimikrobnih jedinjenja gljiva dokazan je u više istraživanja. U jugoistočnoj Kini, gljiva *Dictyophora* spp. tradicionalno se koristi prilikom kuvanja u domaćinstvu, kao prirodni konzervans u cilju prevencije mikrobiološkog kvara i da bi hrana zadržala svežinu i odličan ukus (Han i sar., 2008; Tan i sar., 2002). Kvalitet tofu sira i mesa može biti održan nekoliko dana dodavanjem ekstrakta *Dictyophora* spp. ili njenog plodonosnog tela, dok je hrana koja nije sadržala ovu gljivu bila pokvarena znatno ranije (Han i sar., 2008).

Dosadašnja ispitivanja pokazala su da su gljive izuzetno bogat izvor mnogih prirodnih antimikrobnih supstanci sa mogućnošću inhibiranja patogenih mikroorganizama, odnosno mikroorganizama koji izazivaju kvar prehrambenih proizvoda.

### **2.5. Odabrane vrste gljiva**

U USAID-ovom godišnjem izveštaju za Srbiju iz 2008. godine prikazano je da se najviše sakupljaju iz prirode vrganji, lisičarke, crne trube, smrčci i tartufi. Takođe, analize godišnjih izveštaja Zavoda za zaštitu prirode u periodu 1993-2016. godine pokazuju da su najugroženije sakupljanjem sledeće vrste gljiva: vrganj, lisičarka, crna truba, supača i rujnica (Mandić, 2018). Zbog relativno dobre rasprostranjenosti po šumama naše zemlje, privlačnog ukusa i dokazanih bioloških potencijala, ove tri vrste gljiva su odabrane kao dodatak frankfurterima: vrganj (*Boletus edulis*), lisičarka (*Cantharellus cibarius*) i crna truba (*Craterellus cornucopioides*).

### 2.5.1. Opšte karakteristike gljive *Boletus edulis*

Od svih gljiva prikupljenih u prirodi, jestive gljive iz roda *Boletus* predstavljaju najkorišćeniju gljivu u Evropi (Szweykowska i Szweykowski, 2003) (slika 1.). Na teritoriji naše zemlje, najviše se koristi gljiva komercijalnog naziva vrganj (*Boletus edulis*) (Vidović, 2011). Raste u listopadnim, a i u jelovim i smrekovim šumama. Plodonosno telo ove gljive sastoji se od šešira i drške. Šešir, koji može da dostigne veličinu od 25 cm u prečniku, je svetle pa do tamnobronzane boje (Szweykowska i Szweykowski, 2003). Drška je široka i čvrsta, i dostiže visinu od 5 do 15 cm (Vidović, 2011). Među svim poznatim vrstama koje pripadaju rodu *Boletus*, vrsta *Boletus edulis* se nesumnjivo smatra gljivom sa najfinijim ukusom (Jaworska i Bernaś, 2009). U dosadašnjim istraživanjima, gljiva *B. edulis* pokazala je dobar antioksidativni (Barros i sar., 2011b; Heleno i sar., 2015; Kosanić i sar., 2012; Tsai i sar., 2007a; Vamanu i Nita, 2013; Vidović, 2011) i antimikrobni efekat (Barros i sar., 2008a; Kosanić i sar., 2012).



Izvor: <http://www.forestfloornarrative.com>

Slika 1. *Boletus edulis*

### 2.5.2. Opšte karakteristike gljive *Cantharellus cibarius*

Lisičarka (*Cantharellus cibarius*) je jedna od najpoželjnijih gljiva za konzumaciju širom sveta (Kozarski i sar., 2015). Predstavlja svetski poznatu vrstu gljive, ne samo zbog izvrsnog ukusa, već i zbog rasprostranjenosti; raste od Skandinavije pa sve do Mediterana u Evropi, Severnoj Americi i Aziji (Falandysz i sar., 2012). Javlja se na različitim nadmorskim visinama i sa različitim vrstama drveća, kako u nizijama (najčešće u prisustvu bukovog drveća), tako i u planinskim predelima (najčešće obraslim smrekom i jelom), gde se može naći i na 1600 metara nadmorske visine (Kozarski i sar., 2015). Karakteriše je zlatno-žuta boja i čvrsta tekstura, postojana i nakon kulinarske obrade

(Falandysz i sar., 2012). Uprkos širokoj rasprostranjenosti, uzgajanje ove gljive u komercijalnim uslovima, i pored brojnih pokušaja nije uspelo, a ponajviše zbog prisustva bakterija i drugih stranih mikroorganizama u tkivima sporokarpa (Pilz i sar., 2003). Analize zasnovane na 100 g sveže gljive pokazale su izrazito nisku količinu lipida (0,53 g) i nisku energetska vrednost (160 kJ). Pored toga, ova gljiva bogata je i mnoštvom vitamina (tiamin, niacin, pantotenska kiselina, riboflavin, askorbinska kiselina), a takođe predstavlja jedan od najbogatijih izvora vitamina D, sa ergokalciferolom (vitamin D<sub>2</sub>) (Kozarski i sar., 2015). Naučnici su takođe dokazali postojanje insekticida kod ove vrste gljiva, koji su potpuno bezbedni za ljude, a štite samu gljivu od insekata i drugih štetnih organizama (Cieniecka-Rosłonkiewicz i sar., 2007). Pored toga, lisičarka (*Cantharellus cibarius*) je izvor fitohemikalija i antioksidanasa sa potencijalnim lekovitim svojstvima (Barros i sar., 2008c; Kosanić i sar., 2012; Kozarski i sar., 2015; Palacios i sar., 2011; Valentão i sar., 2005).



Izvor: <http://www.nlnature.com/>

Slika 2. *Cantharellus cibarius*

### **2.5.3. Opšte karakteristike gljive *Craterellus cornucopioides***

Na trećem mestu po godišnjem skupljanju gljiva u Srbiji nalazi se gljiva komercijalnog naziva crna truba (*Craterellus cornucopioides*). Visoko hranljiva vrsta gljive, pripada porodici *Cantharellaceae*, a rasprostranjena je u Evropi, Severnoj Americi, Centralnoj Americi, Južnoj Americi, Aziji i u Australiji (Fuhrer, 2005; Pilz i sar., 2003). Raste na predelima bogatim bukovim i hrastovim drvetom (Roody, 2015). Plodonosno telo je oblika trube i nije podeljeno posebno na šešir i dršku, već ova dva fragmenta čine jednu celinu. Crno-smeđe je do crno-sive boje, široka 2 do 9 cm i visoka 2 do 10 cm. Prethodne studije koje su se bazirale samo na fitonutrijente, pokazale su visok sadržaj ergosterola,

seskviterpenoida, ukupnih fenola i flavonoida (Palacios i sar., 2011; Villares i sar., 2014; Watanabe i sar., 2012). Pored toga, potvrđeno je i antioksidativno (Palacios i sar., 2011; Yang i sar., 2018) i antimikrobno (Dimitrijevic i sar., 2015; Kosanić i sar., 2012) dejstvo ekstrakata crne trube.



Izvor: <https://www.naturephoto-cz.com/>

Slika 3. *Craterellus cornucopioides*

## **2.6. Mehanizam antioksidativnog delovanja**

Pri ispitivanju antioksidativnih karakteristika, najveći problem predstavlja nedostatak validne metode koja objektivno meri antioksidativni kapacitet hrane i bioloških sistema. U svom preglednom radu, Frankel i Meyer (2000) ustanovili su da je nedovoljno koristiti jednodimenzionalne metode kako bi se evaluirale antioksidativne karakteristike složenih sistema kao što je hrana. Re i sar. (1999) razvili su „TAEC“ metodu (engl. Trolox equivalent antioxidant capacity) koja je široko primenjena metoda u ispitivanju antioksidativnog kapaciteta hrane. U preglednom radu Sánchez-Moreno (2002) izveštava o DPPH metodi kao jednostavnoj i preciznoj za merenja antioksidativnog kapaciteta ekstrakata voća i povrća. Takođe, izuzetno je teško porediti rezultate različitih antioksidativnih metoda, kao što su to već zaključili Frankel i Meyer (2000).

Sama reč „antioksidans“ postala je izuzetno popularna u društvu posredstvom medija, a kroz izveštavanje o njihovim zdravstvenim benefitima. Definicija antioksidansa bila bi sledeća: „supstanca“ koja se protivi oksidaciji ili inhibira reakcije podstaknute kiseonikom ili peroksidima, a mnoge od ovih supstanci (kao npr. tokoferoli) koriste se kao konzervansi u raznim proizvodima poput masti, ulja, prehrambenih proizvoda, kao i drugih proizvoda za usporavanje oksidacije i usporavanje procesa starenja“. Još jedna, možda više „biološka“ definicija antioksidanasa je sledeća: „sintetičke

ili prirodne supstance dodate proizvodima u cilju prevencije ili odlaganja njihovog kvara, uzrokovanim kiseonikom iz vazduha“ (Huang i sar., 2005).

Autooksidacija je uzrokovana primarno lančanom radikalskom reakcijom između kiseonika i supstrata. Efektivni antioksidansi predstavljaju hvatače slobodnih radikala koji prekidaju lančanu reakciju. U industriji hrane, antioksidansi imaju širi opseg, jedan deo se odnosi na to da uključuju komponente koje preveniraju pojavu užeglosti lipida u hrani, kao i dijetetski antioksidansi – „supstance u hrani koje značajno smanjuju štetan efekat reaktivnih molekula, kao što su reaktivni kiseonik i azot, na normalne fiziološke funkcije kod ljudi“ (Huang i sar., 2005). Antioksidansi koji se koriste u prehrambenoj industriji mogu biti primarne ili sekundarne prirode. Primarni antioksidansi su antioksidansi koji vrše neutralizaciju slobodnih radikala bilo doniranjem atoma vodonika (engl. HAT – „hidrogen atom transfer“) ili putem mehanizma prenosa elektrona (engl. ET – „electron transfer“). Sekundarni antioksidansi su antioksidansi koji vrše neutralizaciju katalizatora prooksidacije. Oni uključuju helatore jona prooksidanasa metala (npr. gvožđa i bakra), prikazani primerima etilendiamintetrasirćetne kiseline i limunske kiseline, ili vrše deaktivaciju reaktivnih vrsta kao što je to slučaj sa singletom kiseonika (beta-karoten) (Huang i sar., 2005). Sintetički antioksidansi kao što su butilhidrokisanzol (BHA), butilhidroksitoluen (BHT), propil-galat (PG) i terc-butilhidrohinon (TBHQ) koriste se kao primarni antioksidansi u cilju hvatanja slobodnih radikala i kontroli oksidacije, kao i sprečavanja razvoja negativnog mirisa i ukusa (Huang i sar., 2005). Međutim, mnogo su učestaliji interesi usmereni ka istraživanju prirodnih antioksidanasa zbog toksičnih efekata pojedinih sintetičkih antioksidanasa u visokim koncentracijama (Huang i sar., 2005).

Oksidacija lipida je glavni uzrok kvara hrane i uzrok inicijacije i propagacije zdravstvenih problema uzrokovanih oksidativnim stresom. Razvoj neprijatnog mirisa u hrani i gubitak esencijalnih masnih kiselina, vitamina rastvorljivih u mastima i drugih bioaktivnih molekula su među štetnim efektima koji nastaju prilikom oksidacije masti u hrani (Shahidi i Zhong, 2005). Uopšteno gledajući, oksidacija lipida produkuje hidroperokside i konjugovane diene (ili triene) kao proizvode primarne oksidacije, koji su nestabilni i dalje se raspadaju na mnoštvo proizvoda sekundarne oksidacije, uključujući alkohole, aldehide, ketone, hidrokarbone, isparljive organske kiseline itd. Dok su proizvodi primarne oksidacije bez mirisa i ukusa, produkti sekundarne oksidacije često daju produkte neprijatnog mirisa i ukusa, i stoga utiču na prihvatljivost hrane. Ovi proizvodi sekundarne oksidacije imaju vrlo nizak prag detekcije (Huang i sar., 2005).

Različite metode dostupne su za direktno merenje atoma vodonika ili transfera elektrona od potencijalnog antioksidansa do slobodnog radikala. U zavisnosti od hemijske reakcije, ove metode dele se na dve kategorije: transfer atoma vodonika (HAT) i mehanizam prenosa elektrona (ET).

Antioksidansi mogu da hvataju slobodne radikale ili druge reaktivne vrste molekula (npr. vodonik-peroksid i lipidne perokside) pomoću „HAT“ i „ET“ mehanizama, dovodeći do istih rezultata, bez obzira na mehanizam koji je uključen, iako kinetika i potencijal za nuspojave u reakcijama variraju (Prior i sar., 2005).



### 3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Fino usitnjene barene kobasice u tipu frankfurtera podležu različitim promenama tokom čuvanja, odnosno skladištenja. Najizraženije su oksidativne promene na lipidima, koje dovode do užeglosti i neprijatnog mirisa i ukusa, a pored oksidacije i promene parametara kvaliteta frankfurtera, koje se ogledaju u promeni boje, teksturalnih vrednosti, promeni pH vrednosti, te mikrobiološkog kvaliteta i senzorskih karakteristika finalnog proizvoda.

Oksidacija lipida odavno je prepoznata kao jedan od glavnih problema koji uzrokuje negativan uticaj na kvalitet i rok trajanja proizvoda od mesa – dovodi do pojave užeglosti, diskoloracije i kvarenja mesa i proizvoda od mesa (Pil-Nam i sar., 2015). Stoga, sve je veća potreba za prevencijom oksidativnih procesa u mesu i proizvodima od mesa, kako primenom komercijalnih, tako i prirodnih antioksidanasa. Takođe, postoje i određene sumnje da sintetički antioksidansi imaju negativan uticaj na zdravlje potrošača, pa su sve glasnjiji zahtevi da bi njihova upotreba u prehrambenoj industriji trebala da bude ograničena. Stoga, javlja se novi trend upotrebe antioksidanasa iz prirodnih izvora koji privlači pažnju kako potrošača, tako i proizvođača mesa i mesnih prerađevina. S obzirom da gljive sadrže značajnu količinu polifenola, jedinjenja koja su poznata kao antioksidansi, njihova primena bi u budućnosti mogla da utiče na smanjenje korišćenja sintetičkih antioksidanasa u industriji mesa. Takođe, postoje i brojni dokazi da gljive imaju i antimikrobna svojstva, a mogu i da se dodaju u proizvode u cilju poboljšanja ukupnog kvaliteta.

Osnovni cilj ovog istraživanja jeste ispitivanje antioksidativnog i antimikrobnog potencijala dekokta vrganja (*Boletus edulis*), lisičarke (*Cantharellus cibarius*) i crne trube (*Craterellus cornucopioides*), koje je obavljeno sledećim metodama:

- DPPH testom,
- ABTS testom,
- Sposobnošću redukcije jona gvožđa (FRAP),
- Sposobnošću redukcije jona bakra (CUPRAC),
- Konjugen dienskom,
- Metodom izbeljivanja  $\beta$ -karotena i
- Mikrodilucionim metodom (antimikrobni potencijal),

te njihovog dejstva na ukupan kvalitetet barenih kobasica u tipu frankfurtera tokom skladištenja, praćenjem:

- sadržaja ukupnih fenola tokom skladištenja,
- stepena oksidacije kobasica tokom skladištenja (ABTS i TBARS test),
- osnovnog hemijskog sastava,

- promene boje tokom skladištenja,
- promene pH vrednosti tokom skladištenja,
- teksturalnih svojstava tokom skladištenja,
- mikrobiološkog kvaliteta tokom skladištenja;
- ocene senzorske prihvatljivosti kobasica tokom skladištenja.

## 4. MATERIJAL I METOD

### 4.1. Hemikalije

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina), 2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) (ABTS), kalijum-persulfat, Cu(II)-sulfat, kalijum-fericijanid, trihlorsirćetna kiselina, dimetil-sulfoksid (DMSO), neokuproin, amonijum-acetat, natrijum-acetat, natrijum-hidrogenkarbonat, kalijum-peroksimonosulfat, trifenil-tetrazolium-hlorid,  $\beta$ -karoten ( $\geq 97.0\%$ ), askorbinska kiselina, Tween 20, Tween 80 kupljeni su od Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, SAD). Metanol i hloroform nabavljeni su od LGC Promochem, Nemačka. Etanol je kupljen od Reahem (Novi Sad, Srbija). Mononatrijum-fosfat i dinatrijum-hidrogenfosfat dobijeni su od Merck (Darmstadt, Nemačka). Linoleinska kiselina kupljena je od Tokyo chemical industry Co., LTD. (Tokyo, Japan).

Standardi poput askorbinske kiseline, etilendiamintetrasirćetne kiseline (EDTA), galne kiseline, butilhidroksitoluen (BHT),  $\alpha$ -tokoferola i Troloksa kupljeni su od Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, SAD) i Merck Co. (Darmstadt, Nemačka).

### 4.2. Priprema uzoraka dekokta gljiva

Milli-Q voda, dobijena od Milli-Q sistema za prečišćavanje vode Merck (Darmstadt, Nemačka) korišćena je za pripremu uzorka. U cilju dobijanja dekokta (vrelog vodenog ekstrakta gljive), kombinacija suvog praha gljive i MQ vode (1:10) zagrevana je na temperaturi od 80 °C, u trajanju od jednog časa. Dobijeni dekokt podvrgnut je daljim analizama *in vitro*.

### 4.3. Proizvodnja frankfurtera

Prah vrganja (*Boletus edulis*), lisičarke (*Cantherllus cibarius*) i crne trube (*Craterellus cornucopioides*) kupljen je od B.M.B. (Arije, Srbija). Dekokti gljiva pripremljeni su na sledeći način: 60 g praha dodato je u 2 litra destilovane vode, prethodno zagrejane na 80 °C. Smeša je podvrgnuta refleksu u trajanju od jednog časa, 80 °C. Dekokti dobijeni na ovakav način nasuti su u plastične lodne, ohlađeni i zamrznuti, u cilju dobijanja leda (dekokt 1). Ovaj postupak urađen je u triplikatu (T1). Ista procedura korišćena je i za naredne tri serije (T2), samo što je ovaj put 120 g praha gljive korišćeno u svakoj pojedinačnoj seriji, i isti postupak ponovljen je za sve tri vrste gljiva, vrganj (*Boletus edulis*), lisičarku (*Cantherllus cibarius*) i crnu trubu (*Craterellus cornucopioides*) (dekokt 2). Kontrolna formulacija (C) napravljena je sa ledom koji je dobijen prethodnim zamrzavanjem destilovane vode. Svi tretmani napravljeni su kako bi se dobile šarže od 8 kg (Tabela 1).

Tabela 1. Receptura različitih vrsta frankfurtera (izražena u % različitih sastojaka u recepturi). T1: koncentracija od 0,75% *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius* ili *Craterellus cornucopioides* gljiva u proizvodnoj šarži. T2: koncentracija od 1,5% *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius* ili *Craterellus cornucopioides* gljiva u proizvodnoj šarži. C: kontrolna šarža, samo sa ledom umesto dekokta gljiva.

Sastojci	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	Kontrola (C) <sup>1</sup>
Meso	48%	48%	48%
ČMT	25%	25%	25%
Led	-	-	25%
Dekokt 1	25%	-	-
Dekokt 2	-	25%	-
Nitritna so	1,7%	1,7%	1,7%
Polifosfat	0,3%	0,3%	0,3%

Kako bi ustanovili da li dekokti gljiva ispoljavaju antioksidativni i antimikrobni efekat u frankfurterima, uobičajeni začini kao što su crni luk, beli luk i dr. nisu dodavani, iz istog razloga kobasice nisu ni dimljene, jer ovi dodaci i dim mogu takođe ispoljiti antioksidativne i antimikrobne aktivnosti, koje mogu uticati i maskirati stvarni efekat dodatih dekokta u proizvod. Sveže meso od buta i čvrsto masno tkivo (ČMT) svinja kupljeni su od lokalne klanice. Vezivno tkivo i vidljiva masnoća skinuta je sa mišića buta. Očišćeno meso i leđna slanina samleveni su na mašini za mlevenje mesa kroz šajbnu promera 8 mm, koristeći vuk (Laska 82H, Austrija). Meso je zatim prebačeno do kutera (Müller EMS, Nemačka), nakon čega su dodati nitritna so i polifosfati. Zatim je meso usitnjavano oko tri minuta pri manjim brzinama, kako bi se ekstrahovali miofibrilarni proteini, dok temperatura nije dostigla 6 °C, nakon čega su i ostali sastojci dodati. Temperatura smeše nije prelazila 12 °C, da ne bi došlo do denaturacije proteina (Costa-Lima i sar., 2014). Nakon emulzifikacije, emulzija je napunjena u poliamidne omotače (Edicas, Girona, Spain; prečnika 22 mm) koristeći punilicu. Frankfurteri su bareni na temperaturi od 80 °C u atmosferi (EL-C-Q 1900, Kerres Anlagensteme GmbH, Backnang, Nemačka) do postizanja 72 °C u centru proizvoda. Barene kobasice ohlađene su pomoću korišćenja štednih tuševa. Nakon toga, uzorci su pakovani u polietilenske vreće (3 frankfurtera u jednoj vreći, po jedan frankfurter iz svake proizvodne šarže) (dan 1). Zatim su vreće sa kobasicama vakuumirane pomoću stone komorne vakuum mašine (MVS 35x, Minipack-Torre SpA, Italija) i na kraju označene različitim datumima, po vremenu vršenja analiza (dan 1 – dan 60), na deset dana razmaka između analiza.

#### 4.4. Antioksidativni efekat dekokta gljiva

##### 4.4.1. DPPH metod

Korišćena je metoda koju je opisala Vunduk i sar. (2015). U prvoj seriji svakom prahu gljiva (0,05-10 mg/ml) u MQ vodi dodat je 1 ml sveže pripremljenog rastvora 0,2 mM DPPH u DMSO. U drugoj

seriji, svakom uzorku dodavan je 1 ml rastvora DMSO. Ovako pripremljen rastvor iz prve serije energično je mešan u trajanju od jednog minuta, a zatim ostavljen u mraku 40 minuta na 20 °C. Apsorbanca ovako dobijenog rastvora iz druge serije očitana je odmah na UV/VIS spektrofotometru (Shimadzu UV-1800, Japan), na 517 nm. Apsorbanca iz prve serije izmerena je nakon inkubacije. Kao kontrolni uzorak korišćen je rastvor koji je sadržao sve komponente, osim ekstrakta.

Sposobnost hvatanja slobodnih DPPH radikala računata je po navedenoj jednačini:

% hvatanja slobodnih DPPH radikala =  $[1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100$ , gde je:

$A_i$  - apsorbanca 2 ml ekstrakta sa dodatkom 1 ml rastvora DPPH

$A_j$  - apsorbanca 2 ml ekstrakta sa dodatkom 1 ml rastvora DMSO

$A_c$  - apsorbanca kontrolnog rastvora - 2 ml DMSO i 1 ml DPPH

Askorbinska kiselina i BHT korišćeni su kao pozitivne kontrole (Ekanayake i sar., 2005). Sva merenja urađena su u triplikatu.

#### **4.4.2. ABTS metod**

ABTS test sproveden je prema Petrović i sar. (2016), adaptiran za mikrotitarske ploče sa 96 bunarića. Vodeni rastvor ABTS (5 ml, 3,8 mg/ml) pomešan je sa kalijum persulfatom (0,088 ml, 38 mg/ml), ostavljen tokom 16 h i podešen vodom na 734 nm. Dekokti gljiva (0,02 ml) su pomešani sa ABTS rastvorom radikala i ostavljeni u mraku 10 minuta. Apsorbanca je očitana koristeći čitač mikrotitarskih ploča (BioTek ELx808, Winooski, VT, USA) na 734 nm, u odnosu na slepu probu (0,02 ml vode i 0,02 ml ABTS rastvora radikala). Neutralizacija ABTS radikala izražena je u %, koristeći sledeću jednačinu:

$$ABTSn (\%) = \frac{A_{\text{slepe probe}} - A_{\text{uzorka}}}{A_{\text{slepe probe}}} \times 100$$

Etanolni rastvori ekstrakata frankfurtera testirani su na isti način. Sva merenja urađena su u triplikatu.

#### **4.4.3. Sposobnost redukcije jona gvožđa (FRAP)**

Redukciona sposobnost određena je prema metodi koju su opisali Petrović i sar. (2016). Vodeni rastvor ekstrakta (0.5 ml, 0.625-10 mg/ml) pomešan je sa natrijum fosfatnim puferom (0.5 ml, 0.2 M, pH 6.6) i kalijum fericijanidom (0.5 ml, 1%). Nakon 20 minuta inkubacije na 50 °C, trihlosirćetna kiselina (0.5 ml, 10%), MQ voda (1 ml) i feri hloridni rastvor (0.2 ml, 0.1%) su dodati, redom. Apsorbanca je merena odmah na 700 nm u odnosu na slepu probu (rastvor koji je sadržao sve reagense, izuzev uzoraka). Pozitivna kontrola pripremljena je redukcijom ukupnih  $Fe^{3+}$  jona

ekvivalentnom molarnom količinom askorbinske kiseline i redukujućom sposobnošću ekstrakata. Sva merenja urađena su u triplikatu.

#### **4.4.4. Sposobnost redukcije jona bakra (CUPRAC)**

Ovaj metod koristi  $\text{Cu}^{2+}$  kompleksni reagens koji ima sposobnost oksidacije supstanci rastvorenih u vodi i mastima, a svoju reaktivnost pokazuje u reakciji sa svim tipovima bioloških antioksidanasa (Özyürek i sar., 2011). Ova metoda zasnovana je na transferu elektrona, pri fiziološkim pH vrednostima.  $\text{Cu}^{2+}$  redukuje se u  $\text{Cu}^+$ , koji sa neokuproinom formira kompleks koji je veoma stabilan (Apak i sar., 2004). Apsorbanca je očitana koristeći čitač mikrotitarskih ploča (BioTek ELx808, Winooski, VT, USA) na 450 nm, u odnosu na slepu probu (voda je dodata umesto uzorka). Sva merenja urađena su u triplikatu.

#### **4.4.5. Ispitivanje antioksidativnih svojstava ekstrakata konjugen dienskom metodom**

Konjugen dienska metoda prema Petrović i sar. (2016) izvedena je u cilju određivanja antioksidativne aktivnosti. Prah gljiva rastvoren je u MQ vodi (0.1-10 mg/ml), te im je dodato 2 ml 10 mM emulzije linoleinske kiseline u 0.2 M natrijum-fosfatnom puferu. Stabilnost emulzije obezbeđena je dodatkom 6.5 mM Tween-a 20 i rastvor je, uz mešanje, inkubiran 15 h, u mraku, na 37 °C, kako bi se ubrzala oksidacija. Potom je 0.2 ml rastvora dodato u 6 ml apsolutnog etanola. Transparentnost rastvora obezbeđena je centrifugiranjem, a za merenje je uzet supernatant. Apsorbanca supernatanta je merena na UV/VIS spektrofotometru (Shimadzu UV-1800, Japan) na 234 nm. Slepa proba sadržala je sve komponente osim ekstrakta. Antioksidativnost je izračunata korišćenjem sledeće formule:

Antioksidativna aktivnost (%) =  $[(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$ , gde je:

$A_0$  – apsorbanca slepe probe

$A_1$  – apsorbanca rastvora sa uzorkom

Askorbinska kiselina i  $\alpha$ -tokoferol su korišćeni kao pozitivne kontrole. Vrednost od 100% ukazuje na najjaču antioksidativnu aktivnost, tj. inhibiciju peroksidacije linoleinske kiseline. Sva merenja urađena su u triplikatu.

#### **4.4.6. Određivanje antioksidativne aktivnosti metodom izbeljivanja $\beta$ -karotena**

$\beta$ -karoten linoleinski model sistem (Barros i sar., 2007) sa manjim izmenama, korišćen je u cilju ispitivanja antioksidativne aktivnosti dekokta gljiva. U cilju pripremanja radnog rastvora  $\beta$ -karotena, 1 mg praha reagensa pomešan je sa 5 ml hloroforma i uparen pod vakuumom, na 40 °C. Nakon toga, linoleinska kiselina (0.04 g), emulgator tvinn 80 (0.4 g) i destilovana voda (100 ml) su dodani i energično mešani na magnetnoj mešalici. Alikvoti rastvora uzoraka (0.02 ml) dodavani su u bunariće

mikrotitarskih ploča, praćeni sa dodatkom  $\beta$ -karoten radnog rastvora (0.25 ml). Apsorbanca je oćitana odmah (450 nm), kao i nakon 50 minuta inkubacije na 45 °C, u odnosu na vodu. Rezultati su izraćeni kao % inhibicije peroksidacije lipida:

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

gde je:  $\Delta Ab$  razlika apsorbance slepe probe merena odmah nakon mešanja reagenasa i nakon inkubacije od 50 minuta;  $\Delta As$  je razlika između apsorbanci ekstrakata merena odmah nakon mešanja reagenasa i nakon inkubacije od 50 minuta. Sva merenja uraćena su u triplikatu.

#### **4.5. Antimikrobni kapacitet dekokta gljiva**

U cilju odrećivanja antimikrobnog potencijala gljiva *in vitro*, upotrebljene su tri Gram-negativne bakterije - *Salmonella typhimurium* 14028, *Escherichia coli* (O157:H7) 35150 i *Yersinia enterocolitica* 27729, tri Gram pozitivna soja bakterija - *Staphylococcus aureus* 25923, *Bacillus cereus* 11778 i *Listeria monocytogenes* 19111, i takoće dve vrste plesni - *Candida albicans* 10231 i *Pichia fermentans* 28789. Ovi veoma poznati patogeni, koji pripadaju ATCC („American Type Culture Collection“, Rockville, Maryland, SAD) izabrani su zbog mogućnosti prenosa putem hrane, odnosno prehrambenih proizvoda.

Da bi odredili minimalnu inhibitornu koncentraciju (MIC) i minimalnu baktericidnu/fungicidnu (MBC/MFC) koncentraciju, brot mikrodilucioni metod upotrebljen je kao u metodi koju su opisali Klaus i sar. (2015). Za sva ispitivanja ovom metodom, korišćene su koncentracije dekokta gljiva u rasponu od 0,0097 – 20,0 mg/ml. Sva merenja uraćena su u triplikatu.

#### **4.6. Metoda odrećivanja ukupnih fenola**

Princip metode zasniva se na ekstrakciji homogenizovanih uzoraka kobasica (5 g) sa etanolom (25 ml, 96%). Ekstrakcija uzoraka izvršena je u ultraturaksu na 15000 obrtaja tokom dva minuta. Tako dobijeni ekstrakt filtritan je kroz filter papir (Whatman No. 1). U epruvetu se nakon filtriranja dodavao 1 ml ekstrakta, a nakon toga Folin-Ciocalteu reagens (0,5 ml) i zasićeni rastvor natrijum-karbonata (1 ml). Nakon 1 h formirano je plavo obojenje, koje je mereno na talasnoj dućini od 725 nm. Sadržaj fenola raćunat je preko kalibracione krive (funkcija apsorbancije u zavisnosti od koncentracije) standardnog rastvora galne kiseline. Rezultat je izraćen kao miligram-ekvivalenta galne kiseline po kilogramu uzorka – mg GAE/kg (Naveena i sar., 2013). Sva merenja uraćena su u triplikatu.

#### **4.7. Metode za određivanje antioksidativnih karakteristika frankfurtera**

##### **4.7.1. Antioksidativna svojstva frankfurtera merena ABTS metodom**

Dvadeset grama svežih frankfurtera homogenizovano je u blenderu (Blender 8011S, Waring Commercial, Torrington, Connecticut, SAD) sa etanolom (200 ml) u trajanju od 1 min i ostavljeno na mešanju (Lab Companion SI-600R Benchtop Shaker, Minnesota, SAD), 120 obrtaja po minutu, u trajanju od 24 h, na sobnoj temperaturi. Nakon filtracije (filter papir Whatman No.1) tečni delovi su sakupljeni. Postupak je ponovljen još jedanput na isti način i sakupljeni filtrati su upareni pod niskim pritiskom (37 °C) (Rotavapor R-100, Buchi Labortechnik AG, Flawil, Švajcarska), a zatim podvrgnuti ABTS testu, koji je prethodno opisan (u ovom slučaju ABTS je pripremljen u etanolu, a slepa proba je sadržala etanol i ABTS rastvor radikala). Sva merenja urađena su u triplikatu.

##### **4.7.2. Sadržaj malondialdehida (TBARS test)**

Ova metoda sprovedena je prema metodi koju su opisali Botsoglou i sar. (1994), uz manje modifikacije. Ukupna zapremina trihlorsirćetne kiseline dodata je uzorcima i izvršena je ekstrakcija u ultrazvučnom vodenom kupatilu XUB 12 (Grant Instruments, Cambridge, Velika Britanija). Spektrofotometar Jenway 6300 (Jenway, Felsted, Velika Britanija) korišćen je za merenje apsorbance. TBARS vrednosti izražene su kao miligrami malondialdehida na kilogram uzorka (mg MDA/kg). Sva merenja urađena su u triplikatu.

#### **4.8. Određivanje osnovnog hemijskog sastava frankfurtera**

Osnovni hemijski sastav urađen je prema metodama preporučenim od međunarodne organizacije za standardizaciju (ISO), i to sadržaj vlage (ISO, 1442, 1998), sadržaj proteina (azot x 6.25; ISO 937, 1978) i sadržaj ukupnih masti (ISO 1443, 1992). Sva merenja urađena su u triplikatu.

#### **4.9. Instrumentalno merenje boje frankfurtera pomoću kompjuterskog vizuelnog sistema (CVS)**

Kompjuterski vizuelni sistem (CVS) sastoji se od sledećih elemenata: mračne komore, digitalne kamere, računara i monitora. U eksperimentu je korišćena digitalna kamera Sony DSLR-A200 (10.2 M, CCD senzor). Kamera se nalazila na postolju, vertikalno postavljena i na udaljenosti 30 cm od uzorka. Podešavanje kamere je bilo sledeće: brzina zatvarača 1/6 s, manuelni režim (M), otvor Av F/11.0, ISO brzina 100, bez blica, žižne daljine 30 mm, objektiv: DT-S18-70 mm f 3.5-5,6. Četiri fluorescentne lampe (Master Graphica TLD 965) sa temperaturom boje 6500 K korišćene su za osvetljavanje. U cilju dobijanja što uniformnijeg osvetljenja uzorka, lampe (dužine 60 cm) bile su smeštene na udaljenosti 50 cm od uzorka i pod uglom od 45°. Kamera se nalazila na postolju (smeštenom na poklopcu kutije sa unutrašnje strane) i povezana je sa daljinskim uređajem, kojim su slikani uzorci. Kamera i lampe su smeštene unutar mračne komore čiji su unutrašnji zidovi obloženi crnim fotografskim platnom kako bi se smanjilo rasipanje i difuzija svetlosti. Kalibracija kamere pre



same analize vršena je pomoću standardne pločice X-Rite ColorChecker Passport (Michigan, SAD). Pločica (4x4 cm<sup>2</sup>) ima 24 standardne boje. ColorChecker je fotografisan upotrebom implementiranog kompjuterskog vizuelnog sistema kako bi se dobili ulazni signali RGB u teoretskom rasponu 0-225 (RGB vrednosti se izražavaju kao sRGB D65 и CIE Lab D50, 2° posmatrač). Kalibracija monitora vršena je fotografisanjem pločice, a zatim otvaranjem u odgovarajućem softveru ColorChecker Passport 1.0.1, X-Rite Inc koji je instaliran na kompjuteru i koji omogućava automatsku procenu vrednosti boje i kreiranje DNG profila slike. Svaka kamera različito vidi boje i formiranjem ovog profila onemogućuju se varijacije. Napravljen profil koristio se za sve slike, uz iste uslove osvetljenja. Monitor je kalibrisan sa X-Rite i Display Pro uređajem sa temperaturom boje od 6500 K, mrežom gama 2.2 i belog svetla 140 cd/m<sup>2</sup> i iProfiler 1.5.6 softver korišćen je da kreira ICC profil monitora. Za analizu slika korišćen je Adobe Photoshop CC (64 bit). RGB slike su dobijene od RAW formata slika. Boja je merena korišćenjem alata Color Sampler Tool. Sva merenja urađena su u triplikatu.

#### **4.10. Merenje pH vrednosti frankfurtera**

pH vrednost određena je upotrebom portabl pH metra (Consort C931, Turnhout, Belgija) opremljenog sa ubodnom ojačanom staklenom elektrodom (Mettler Toledo, Greifensee, Švajcarska) za direktno određivanje pH vrednosti u proizvodima od mesa. Pre i tokom očitavanja pH metar je kalibrisan standardnim fosfatnim puferima (pH pufera za kalibraciju bio je 4.00 i 7.02 na 20 °C) i podešen na izmerenu temperaturu kobasica. Kao rezultat uzeta je aritmetička sredina vrednosti pH određene iz tri kobasice iz svakog pojedinačnog pakovanja (SRPS ISO 2917, 2004, referentna metoda). Sva merenja urađena su u triplikatu.

#### **4.11. Instrumentalno merenje teksture primenom analize teksturalnog profila (TPA) i „Warner-Bratzler Shear Force“ (WBSF) testa**

Teksturalni profil frankfurtera meren je na sobnoj temperaturi koristeći TA.XT Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Velika Britanija) sa potisnom moći od 50 kg. Za ovu metodu uziman je uzorak iz samog „jezgra“ (sredine) kobasice: 12 mm širok i 20 mm visok i pozicioniran je upravno na platformu, a zatim i komprimovan dva puta, do 75% od originalne visine uzorka, sa cilindričnim aluminijumskim nastavkom (P/25). Teksturalne osobine dobijene ovom metodom jesu čvrstoća, elastičnost, kohezivnost, gumoznost i žvakljivost (Pons i Fiszman, 1996).

Kod „Warner-Bratzler shear force“ metode korišćen je isti merni instrument, s tim što je ovog puta uzorak meren smicanjem, a visina samog uzorka iznosila je 22 mm, takođe pri ambijetalnim uslovima. Nastavak koji je korišćen u ovoj metodi naziva se „Warner-Bratzler V notch blade“, a parametar koji se dobija u ovoj metodi nazivamo maksimalnim naponom smicanja (N). Sva merenja urađena su u triplikatu.

#### **4.12. Mikrobiološke analize frankfurtera**

Mikrobiološke analize izvršene su na tri uzorka iz svakog pojedinačnog pakovanja. 25 g uzorka homogenizovano je u trajanju od 10 min na 200 obrtaja (Unimax 1010, Heidolph, Nemačka) u 225 ml 1 g/L puferne peptonske vode (Merck, Darmstadt, Nemačka) i pripremljena je serija decimalnih razređenja. Nakon pripreme razređenja, 1 ml svakog razređenja unet je u pojedinačne, sterilne Petri šolje i preliven odgovarajućom hranljivom podlogom za pojedinačne ispitivane mikroorganizme. Sprovedene su sledeće mikrobiološke analize: određivanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija (ISO 4833-2), prisustvo ili odsustvo *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, koagulaza pozitivnih stafilokoka i sulfitoredujućih klostridija prema ISO 7251, ISO 6579, ISO 11290-1, ISO 6888-1 i ISO 7937, redom. Rezultati su izraženi kao log cfu/g. Sva merenja urađena su u triplikatu.

#### **4.13. Procena senzorske prihvatljivosti proizvoda**

Potrošački panel sastojao se od pedeset građana Beograda. Korišćena je 9-bodovna hedonska skala (1 = ekstremno mi se ne sviđa; 5 = niti mi se sviđa, niti mi se ne sviđa; 9 = ekstremno mi se sviđa) za ocenjivanje mirisa, ukusa i ukupne prihvatljivosti, a za svaku pojedinačnu varijantu frankfurtera. Istih pedeset potrošača ocenjivalo je proizvode kroz sedam vremenskih preseka, a koji odgovaraju različitim vremenima skladištenja (24 sata nakon proizvodnje, deseti, dvadeseti, trideseti, četrdeseti, pedeseti i šezdeseti dan), pod identičnim uslovima testiranja.

Uniformni oblici i veličine kodirane su nasumičnim trocifrenim brojevima i servirane pojedinačno u plastičnim posudama bez mirisa. Potrošačima je bila dostupna voda sa smanjenim sadržajem minerala i neslani krekeri kao sredstva za čišćenje nepca (Peryam i Pilgrim, 1957). Sva merenja urađena su u triplikatu.

#### **4.14. Statistička obrada podataka**

Analiza varijanse (ANOVA) primenjena je kako bi se odredila statistička značajnost. Rezultati osnovnog hemijskog sastava, antioksidativnog i antimikrobnog karaktera gljiva *in vitro* analizirani su metodom jednofaktorijalne analize varijanse, sa Takijevim testom koji je odredio statističku značajnost naknadnim poređenjima. Ostale metode analizirane su pomoću dvofaktorijalne analize varijanse, sa ponovljajućim merenjima, uzimajući tretman i vreme skladištenja kao nezavisne faktore (glavne efekte). Bonferonijev test u naknadnim poređenjima korišćen je da bi se odredila statistička značajnost, na nivou pouzdanosti od 95%. Svi podaci analizirani su pomoću SPSS 17.0 (Chicago, Illinois, USA).

## 5. REZULTATI I DISKUSIJA

### 5.1. *Boletus edulis* – antioksidativni i antimikrobni potencijal i uticaj dodatka ove vrste gljive na kvalitet frankfurtera

#### 5.1.1. Antioksidativne karakteristike dekokta *B. edulis* in vitro

##### 5.1.1.1. Sposobnost hvatanja slobodnih DPPH radikala

Hvatanje DPPH radikala je jedna od najčešće korišćenih metoda za evaluaciju antioksidativne aktivnosti. Baziran je na ET principu koji se zasniva na doniranju elektrona antioksidansa da neutralizuje DPPH radikal, što se manifestuje promenom boje merene na 517 nm; diskoloracija koja se odigrava služi kao indikator antioksidativne efikasnosti i može biti prikazana kao EC<sub>50</sub> vrednost, koja je definisana kao koncentracija antioksidansa neophodnog da smanji inicijalnu koncentraciju DPPH za 50%. Međutim, smatra se da uklanjanje DPPH radikala ne oponaša mehanizam hvatanja slobodnih radikala u hrani ili biološkim sistemima, a zbog nedostatka radikalskog kiseonika u samom testu (Benzie i Strain, 1999). Stoga, ovaj metod najviše je baziran na pretpostavci da je antioksidativna aktivnost jednaka kapacitetu elektron-doniranja ili redukujuće sposobnosti (Huang i sar., 2005).

Kod svih tretiranih koncentracija primetno je bilo da je antioksidativna aktivnost rasla sa porastom ispitivanih koncentracija (Tabela 2). EC<sub>50</sub> za vrganj iznosila je 4,46 mg/ml. Niža EC<sub>50</sub> vrednost pokazatelj je više antioksidativne aktivnosti dekokta gljive. Puttaraju i sar. (2006) objavili su da je EC<sub>50</sub> za vrganj iznosio 1,30 mg/ml. Chirinang i Intarapichet (2009) prijavili su slabu antioksidativnu aktivnost vrelog vodenog ekstrakta gljive *Pleurotus ostreatus* (EC<sub>50</sub> = 11,56 mg/ml) i *P. sajor caju* (EC<sub>50</sub> = 13,38 mg/ml). U istraživanju Öztürk i sar. (2011) *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea* i *Boletus edulis* prikazan je slab antioksidativni efekat ove tri gljive sa EC<sub>50</sub> vrednostima 13,75, 26,98 and 15,78 mg/ml, redom. U ovom istraživanju, dekokt vrganja testiran DPPH metodom pokazao je umerenu sposobnost hvatanja radikala, odnosno antioksidativne aktivnosti.

Tabela 2. Antioksidativne karakteristike dekokta *B. edulis* merene DPPH testom.

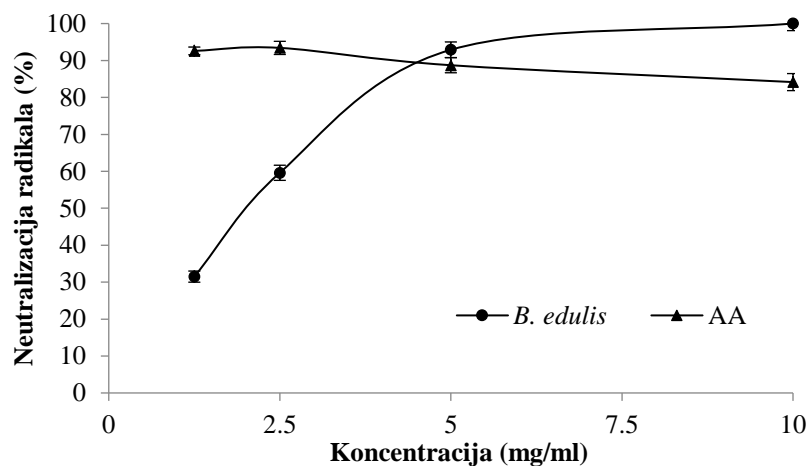
Koncentracija (mg/ml)	<i>B. edulis</i>	L-askorbinska kiselina	BHT
0,625	21,10±0,95 <sup>a,A</sup>	81,33±1,11 <sup>b,A</sup>	5,56±1,17 <sup>c,A</sup>
1,25	35,42±7,13 <sup>a,AB</sup>	83,65±0,09 <sup>b,B</sup>	10,51±0,70 <sup>c,B</sup>
2,5	32,96±11,56 <sup>a,A</sup>	83,38±0,15 <sup>b,B</sup>	21,00±1,00 <sup>a,C</sup>
5	43,62±15,97 <sup>a,AB</sup>	84,38±0,26 <sup>b,B</sup>	32,93±1,81 <sup>a,D</sup>
10	57,55±7,19 <sup>a,B</sup>	81,07±0,49 <sup>b,A</sup>	54,00±1,00 <sup>a,E</sup>
EC <sub>50</sub>	4,46	-	-

Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3 uzorka od svake serije). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-E) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.1.1.2. ABTS metod

Ova metoda prvi put je razvijena kao jednostavna i pogodna metoda za određivanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta. ABTS test meri sposobnost antioksidansa da uhvati stabilni radikalski katjon ABTS<sup>•+</sup> [2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina)], plavo-zelene hromofore sa maksimumom apsorpcije na 734 nm, čiji intenzitet opada u prisustvu antioksidanasa. Antioksidansi mogu neutralizovati radikalski katjon ABTS<sup>•+</sup>, formiran od ABTS, bilo direktnom redukcijom preko doniranja elektrona, bilo preko deaktivacije radikala putem donacije atoma vodonika, dok je balans ova dva mehanizma generalno određen strukturom antioksidansa i pH vrednosti sredine (Prior i sar., 2005). Stoga, iako je ovaj test klasifikovan na osnovu mehanizma dejstva kao ET, HAT mehanizam je takođe prisutan u samom načinu delovanja.

Sposobnost dekokta *B. edulis* da hvata ABTS radikale prikazana je na Grafiku 1, a stopa neutralizacije dostigla je 100% kada je testirana maksimalna koncentracija. Vamanu i Nita (2013) takođe su dobili naglašeno neutralizacijsko delovanje ekstrakata *B. edulis*; opseg neutralizacije iznosio je 60–80% kada je testirana koncentracija od 1 mg/ml raznih vrsta ekstrakata. Sličnu aktivnost objavili su Jaworska i sar. (2015), demonstrirajući jaku korelaciju sa brojem ukupnih polifenola i flavonoida. Neutralizacija ABTS radikala porasla je u skladu sa rastom koncentracija gljiva, a najmanje testirane koncentracije pokazale su značajne % neutralizacije ABTS radikala, što je bitno pošto materijal korišćen u ovoj studiji nije bio u formi klasičnog ekstrakta.



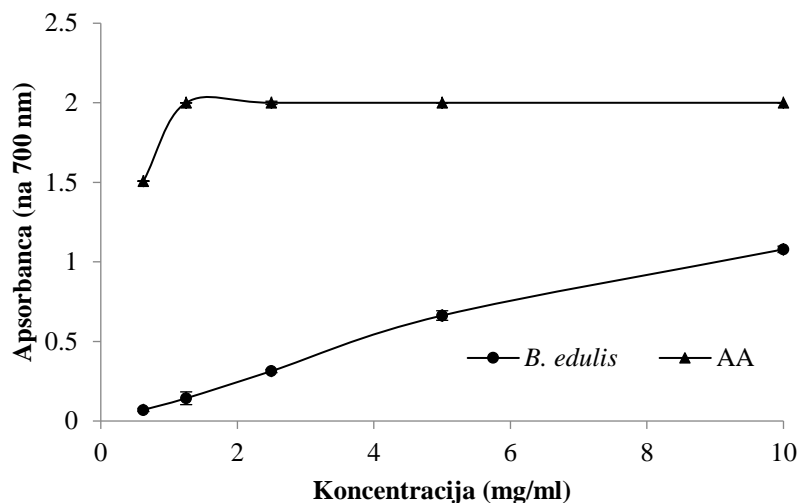
Grafik 1. Antioksidativna aktivnost dekokta *B. edulis* ispitivana neutralizacijom ABTS radikala.

AA – askorbinska kiselina.

### 5.1.1.3. Sposobnost redukcije jona gvožđa (FRAP)

Sposobnost redukcije jona gvožđa predstavlja metodu zasnovanu na reakciji transfera elektrona između antioksidansa i oksidansa, pri čemu dolazi do redukcije  $\text{Fe}^{3+}$  u  $\text{Fe}^{2+}$ . Pozitivna reakcija manifestuje se promenom boje rastvora, a što je vrednost apsorbance na 700 nm veća, to je jača redukciona sposobnost testirane supstance (Khaskheli i sar., 2015).

Redukujuća sposobnost dekokta *B. edulis* zavisila je direktno od koncentracije (Grafik 2), dostižući maksimum pri koncentraciji 10 mg/ml. Maksimalna vrednost dobijena u ovom istraživanju bila je značajno manja od 0,71 (na 700 nm) merena u slučaju etanolnog ekstrakta, ali blizu FRAP vrednosti vrelog vodenog ekstrakta, kao što su objavili Vamanu i Nita (2013), koji su testirali nekoliko tipova ekstrakata vrganja. Slično, Heleno i sar. (2015) pronašli su da je ekstrakt vrganja moćan izvor jedinjenja koja pokazuju najveću redukcionu sposobnost. Iako je L-askorbinska kiselina pokazala znatno veću aktivnost u odnosu na dekokt vrganja u ovom testu, dokazano je da u realnim sistemima, kao što je mišićno tkivo, ona promoviše oksidaciju lipida (Min i Ahn, 2005). Imajući u vidu da gvožđe predstavlja najzastupljeniji prelazni metal u proizvodima od mesa i katališe inicijaciju oksidacije lipida, sposobnost vrganja da redukuje gvožđe mogla bi biti od velike praktične važnosti u preradi mesa (Min i Ahn, 2005). Ove činjenice testirali su Barros i sar. (2011b), i dokazali protektivni efekat ekstrakta vrganja u slučaju oksidacije lipida u goveđim pljeskavicama.



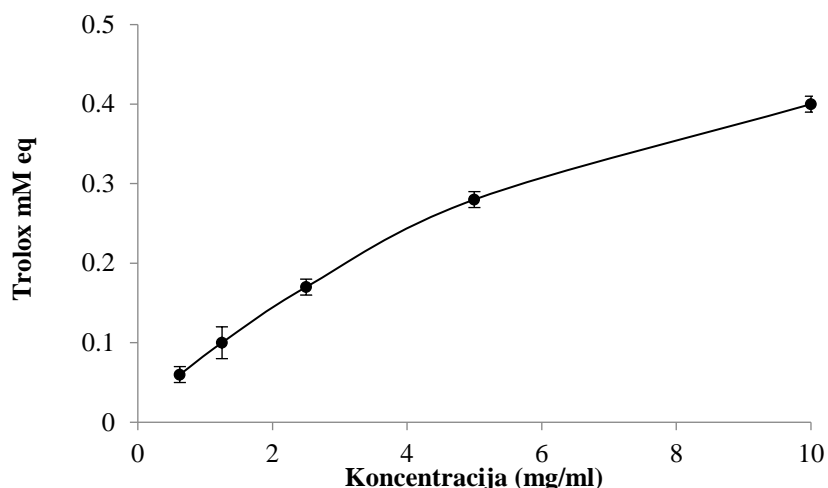
Grafik 2. Antioksidativna aktivnost dekokta *B. edulis* ispitivana metodom redukcione sposobnosti.

AA – askorbinska kiselina.

#### 5.1.1.4. Sposobnost redukcije jona bakra (CUPRAC)

Antioksidativni kapacitet meren pomoću CUPRAC metode jeste bakar-redukujući test razvijen kao varijanta FRAP testa. Ovaj metod meri redukcionu sposobnost antioksidansa da konvertuje kupri ( $\text{Cu}^{2+}$ ) u kupro ( $\text{Cu}^{+}$ ) jon. Slično kao u FRAP testu, ligand se koristi da bi formirao bakar-ligand kompleks, kako bi se olakšalo merenje apsorbance. Neokuproin jeste ligand koji je najzastupljeniji u ovom testu.  $\text{Cu}^{2+}$  - neokuproin kompleks može biti redukovan antioksidansima do  $\text{Cu}^{+}$  - neokuproina, sa maksimumom apsorpcije na 450 nm (Apak i sar., 2004).

Ovaj test primenjen je kako bi se procenila antioksidativna aktivnost materijala pri fiziološkoj pH vrednosti (pH frankfurtera kretao se u rasponu 6,03-6,19), a rezultati su izraženi kao ekvivalenti Troloksa (mM). Kao što je evidentno iz Grafika 3, sposobnost *B. edulis* da redukuje jon bakra zavisila je od koncentracije, dok je  $\text{EC}_{50}$  vrednost bila 5,12 mg/ml. Maksimalna testirana koncentracija pokazala je najjaču redukciju jona bakra, 0,4 ekvivalenta Troloksa mM. Isto tako, Dimitrijević i sar. (2016) pronašli su da su vrste vrganja (*Boletus edulis* Bull., *Boletus regius* Krombh., *Boletus impolitus* Fr.) najjači redukujući agensi testirani ovom metodom, a između nekoliko vrsta šumskih gljiva, povezujući ovu aktivnost sa prirodno visokim sadržajem fenolnih jedinjenja.



Grafik 3. Antioksidativna aktivnost dekokta *B. edulis* ispitivana pomoću CUPRAC testa.

#### 5.1.1.5. Ispitivanje antioksidativnih svojstava ekstrakata konjugen dienskom metodom

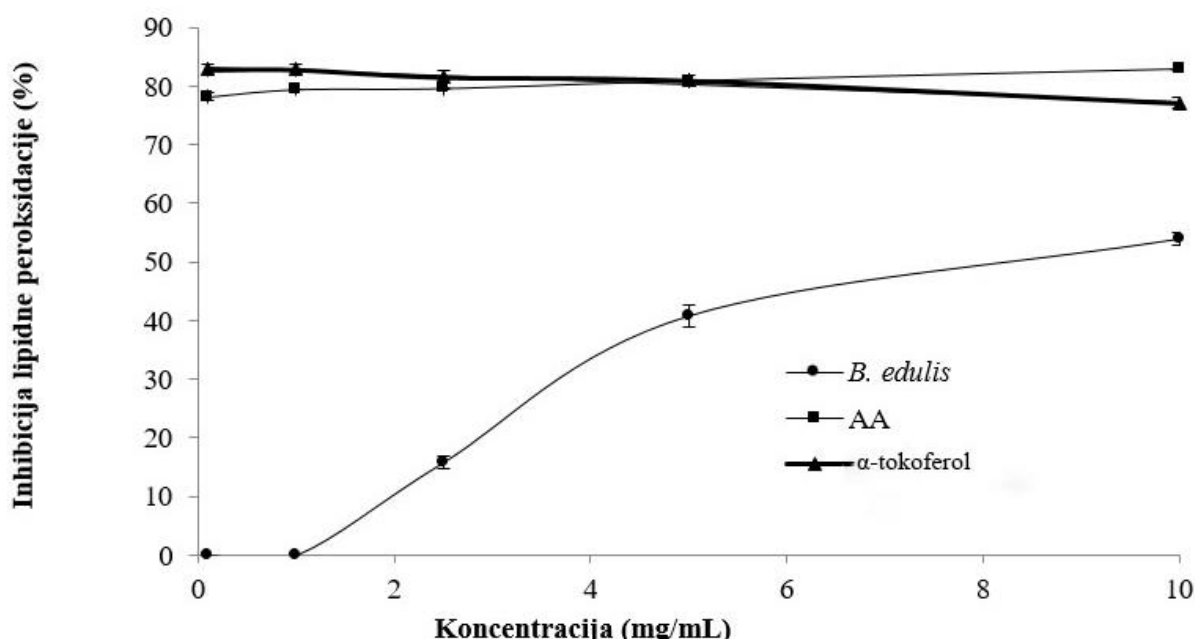
Važna komponenta hrane su polinezasićene masne kiseline, čijom autooksidacijom dolazi do pojave negativnih promena (promene mirisa, ukusa, teksture, boje i nutritivne vrednosti) (Kozarski i sar., 2011). Ova metoda zasnovana je na sposobnosti supstance da uspori oksidaciju konjugovanih diena, koje mogu da se formiraju samo iz polinezasićenih masnih kiselina (Huang i sar., 2005). Supstrat koji se koristi u ovoj metodi je linoleinska kiselina, koja sadrži samo jedan tip konjugovanih diena za razliku od hrane ili ljudskog organizma koji su znatno složeniji, ali se ipak koristi kao metod koji daje procenu određene supstance da deluje preventivno i ne predstavlja celokupnu sliku već se dopunjuje sa drugim testovima antioksidativne aktivnosti ispitivanih supstanci (Huang i sar., 2005).

Frankfurterer mogu sadžati i do 30% masnog tkiva, čiji deo takođe čine i polinezasićene masne kiseline (engl. PUFA – „polyunsaturated fatty acids“). Količina PUFA može varirati u zavisnosti od porekla mesa, a najčešće je to u direktnoj vezi sa količinom polinezasićenih masnih kiselina u ishrani stoke (Pereira i Abreu, 2018). Linoleinska i  $\alpha$ -linoleinska kiselina su dve najznačajnije PUFA u svinjskom mesu, koje u značajnoj meri doprinose kao konstituenti frankfurtera. S druge strane, polinezasićene masne kiseline su visokosenzitivne na spoljašnje uticaje, kao što je kiseonik, koji je uzrok njihove lipidne peroksidacije. Ovi procesi stvaraju različite produkte koji igraju važnu ulogu u razvoju hroničnih bolesti kod ljudi, ali su takođe i ključni faktori pogoršanja kvaliteta proizvoda od mesa (Min i Ahn, 2005). Stoga, dekokt *B. edulis*, kao jedan od sastojaka frankfurtera u ovoj studiji, ispitivan je na sposobnost prevencije lipidne peroksidacije.

U poređenju sa standardima (L-askorbinska kiselina i  $\alpha$ -tokoferol), dekokt *B. edulis* pokazao je umerenu aktivnost (Grafik 4), koja premašuje 50% kada je testirana maksimalna koncentracija. Međutim, najniža ispitivana koncentracija nije se pokazala efektivnom. Porast u prevenciji lipidne

peroksidacije bio je očigledan porastom koncentracije dekokta, ali sa nepravilnim trendom; polazio je od 2,5 mg/ml i povećavao se više nego dvostruko, udvostručenjem koncentracije dekokta.

Vamanu i Nita (2013) prijavili su mnogo više vrednosti za prevenciju lipidne peroksidacije, ali u ovom slučaju, različiti tipovi ekstrakata vrganja su korišćeni. Stoga, sadržaj aktivnih supstanci bio je višestruko koncentrovaniji. U njihovoj studiji, vrela vodeni ekstrakt, koji je najslabiji dekoktu vrganja, pokazao je gotovo najslabiju aktivnost od svih testiranih uzoraka. Neutralizacija od 50% lipidne peroksidacije postignuta je pri koncentraciji od 1,58 mg/ml, dok je testiranjem dekokta to postignuto pri koncentraciji od 8,45 mg/ml. Ova razlika nastaje zbog broja, odnosno količine antioksidativnih komponenata, u najvećem broju polifenola, koji se ne ekstrahuju obilno u slučaju dekokta. Vidović i sar. (2010) takođe su dokazali da *B. edulis* može sprečiti oksidaciju lipida, opet koristeći veće koncentracije materijala – ekstrakta. Međutim, efekat dekokta vrganja nije značajan i mnogo je primenjiviji, imajući na umu cenu i kompleksnost procedure ekstrakcije, kao i cenu proizvoda od mesa kao što su frankfurteri.



Grafik 4. Antioksidativna aktivnost dekokta *B. edulis* ispitivana konjugen dienskom metodom.

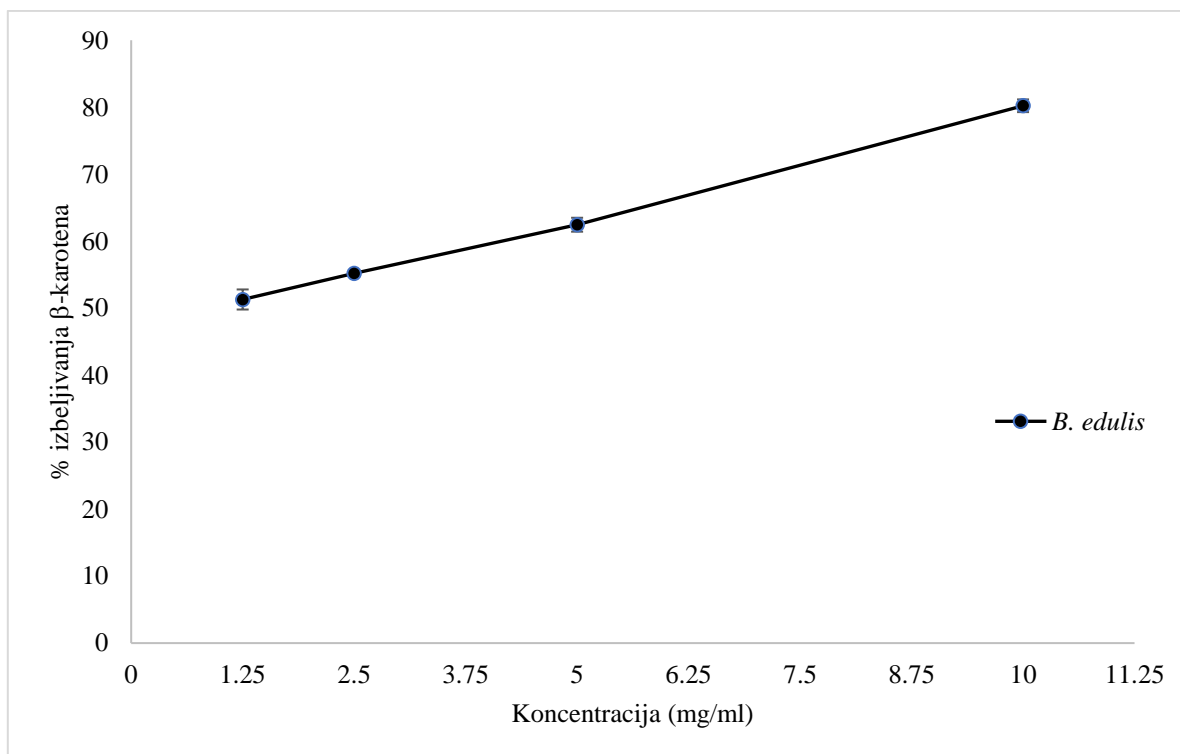
AA – askorbinska kiselina.

#### 5.1.1.6. Metoda izbeljivanja $\beta$ -karotena

$\beta$ -karoten linoleinski sistem baziran je na gubitku žute boje  $\beta$ -karotena tokom njegove reakcije sa radikalima, formiranim oksidacijom linoleinske kiseline u emulziji. Procenat izbeljivanja  $\beta$ -karotena može biti usporen u prisustvu antioksidanasa (Kulisic i sar., 2004). Kao što se može primetiti sa Grafika 5, antioksidativna aktivnost dekokta vrganja čak pri najmanjim testiranim koncentracijama



bila je uočena, dok je pri koncentraciji od 10 mg/ml aktivnost bila veoma dobra. Slične rezultate antioksidativne aktivnosti vrganja, merene istom metodom, zabeležili su i Sarikurkc i sar. (2008), s tim što je u ovoj studiji korišćen metanolni ekstrakt gljive. Ovaj rezultat antioksidativne aktivnosti dekokta vrganja može se smatrati veoma dobrim, pogotovo jer bezbedno može da nađe svoju primenu u prehrambenoj industriji, za razliku od drugih tipova ekstrakcija koje predstavljaju potencijalnu opasnost po bezbednost proizvoda zbog same prirode korišćenih rastvarača.



Grafik 5. Antioksidativna aktivnost dekokta *B. edulis* ispitivana metodom izbeljivanja  $\beta$ -karotena.

Sama procena antioksidativne aktivnosti ne može se izvršiti na osnovu samo jedne metode (Özyürek et al., 2011). Iz tog razloga, nije pravilno prikazivati rezultate kao totalni antioksidativni kapacitet, već se koristi istovremena kombinacija više različitih metoda, koje sa različitih aspekata i preko različitih antioksidativnih mehanizama objašnjavaju ovu problematiku. Sama korelacija rezultata mnogobrojnih antioksidativnih testova i metoda nije moguća (Apak i sar., 2004). Zbog toga je u ovom istraživanju korišćeno 6 različitih metoda, kako bi se kroz kombinovani pristup antioksidativna aktivnost gljive sagledala kroz aktuelne metode.

### 5.1.2. Antimikrobni efekat dekokta *B. edulis* in vitro

Uopšteno gledano, značajnija antibakterijska svojstva dekokta vrganja postignuta su u odnosu na *E. coli* (O157:H7), *L. monocytogenes* i *Y. enterocolitica* (Tabela 3). Dekokti ove gljive pokazali su antimikrobni potencijal prema *E. coli* (O157:H7) i *L. monocytogenes* (MIC - 20 mg/ml). Kosanic i sar. (2013) odredili su MIC vrednosti (5, 2,5, 2,5 mg/ml) u odnosu na *E. coli*, *S. aureus*, *C. albicans*,

redom, za acetonski ekstrakt, i takođe MIC vrednosti (5, 2,5, 2,5 mg/ml) prema istim mikroorganizmima, za metanolni ekstrakt. Ova dva ekstrakta imala su značajno bolju aktivnost od vrganja koji je ekstrahovan u obliku dekokta, što pokazuje koliku ulogu ima izbor rastvarača na dobijanje najefikasnijeg antimikrobnog sredstva.

Pored inhibitornog efekta (MIC – 10 mg/ml), mikrobicidni efekat (MBC – 20 mg/ml) uočen je jedino u slučaju *Y. enterocolitica*, za koju je dokazano da je najosetljivija testirana bakterija na prisustvo dekokta vrganja. Ovo otkriće može biti od izuzetnog značaja ako uzmemo u obzir da je ova bakterija odgovorna za brojne crevne poremećaje i bolesti. Kontaminirana hrana i netretirana voda najčešći su vektori transmisije ove bakterije, čiji je patogeni potencijal pojačan njenom sposobnošću da penetrira u intestinalni trakt ćelijskog zida i produkuje termostabilni enterotoksin (Sabina i sar., 2011).

Nije dostignuto antimikrobno delovanje (MIC > 20 mg/ml) u odnosu na ostale ispitivane mikroorganizme, za primenjene koncentracije dekokta.

Tabela 3. Antibakterijska/antifungicidna sposobnost dekokta *B. edulis*, izražena kao MIC (mg/ml) i MBC/MFC (mg/ml), određena pomoću mikrodilucionog metoda.

Bakterijski soj	Poreklo		Koncentracija (mg/ml)
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028	MIC	> 20
		MBC	-
<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)	ATCC 35150	MIC	20 <sup>A,*</sup>
		MBC	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 27729	MIC	10 <sup>B</sup>
		MBC	20
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	MIC	> 20
		MBC	-
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	MIC	> 20
		MBC	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 19111	MIC	20 <sup>A</sup>
		MBC	-
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	MIC	> 20
		MBC	-
<i>Pichia fermentans</i>	ATCC 28789	MIC	> 20
		MBC	-

Standardna devijacija nije prikazana jer nije bilo razlike između merenja.

\*Unutar iste kolone, srednje vrednosti praćene različitim slovima bile su značajno različite ( $P < 0,05$ ).

- nije postignuto

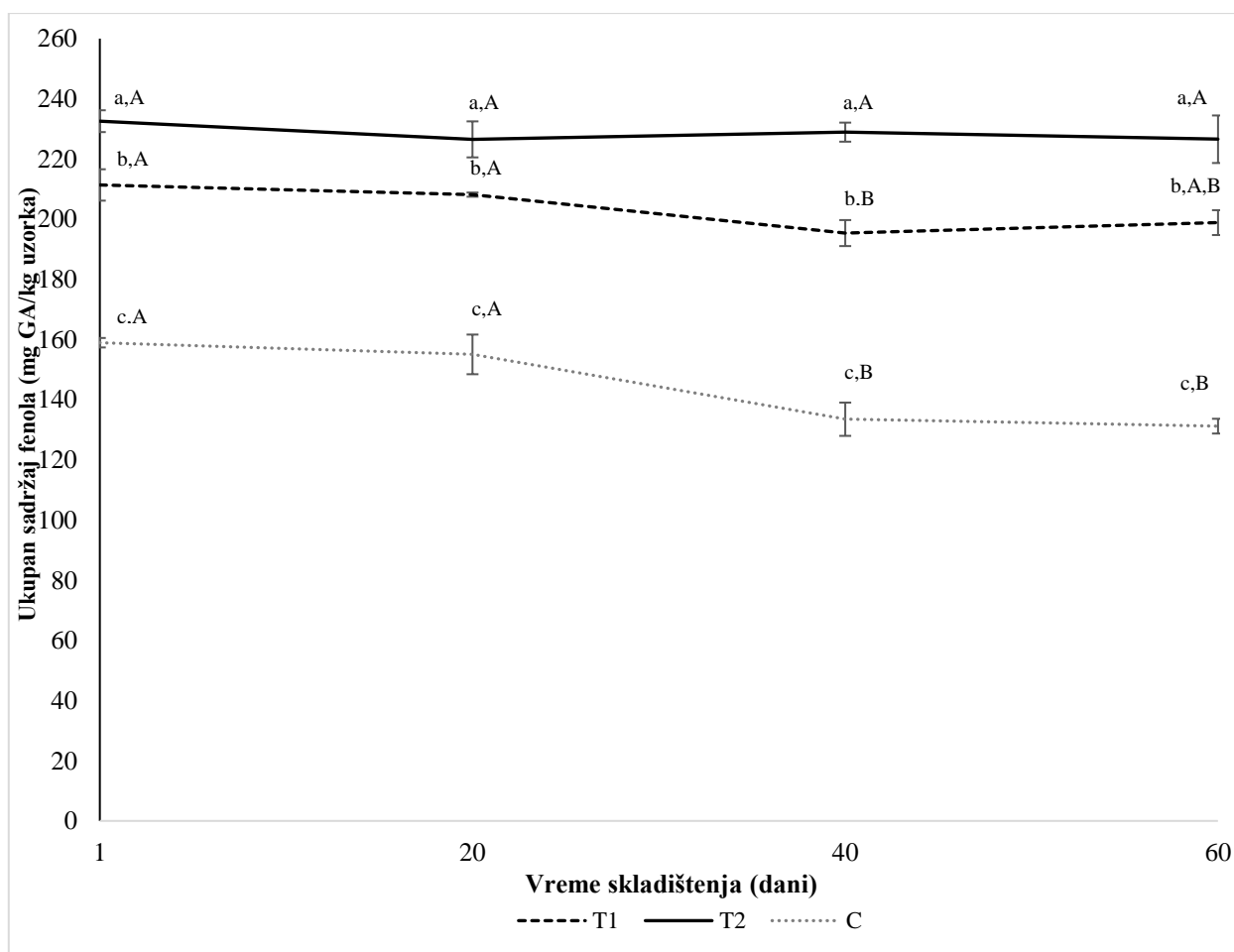
### 5.1.3. Ukupan sadržaj fenolnih komponenti

Glavne komponente odgovorne za antioksidativnu aktivnost gljiva jesu fenoli (Elmastas i sar., 2007). Što se tiče samog mehanizma antioksidativnog dejstva fenola, oni mogu da deluju kao redukujući agensi, kao antioksidansi donori atoma vodonika, a imaju i svojstva i osobine heliranja metala

(Vidović, 2011). Rezultati prikazani na Grafiku 6 pokazuju da što je veća koncentracija gljive u samom proizvodu, to je veća i ukupna količina fenola.

Sadržaj ukupnih fenolnih jedinjenja određen metodom Folin-Ciocalteu ne mora dati uvek precizne podatke o količini ukupnih fenola u ekstraktima, pogotovo u sistemu kakav je frankfurter, a zbog prisustva interferirajućih jedinjenja, odnosno jedinjenja koji reaguju na sličan način kao i fenolna jedinjenja u ovim reakcijama (ugljeni hidrati, amini, organske kiseline, vitamin C) (Singleton i sar., 1999).

Tokom skladištenja, sadržaj fenolnih komponenti u frankfurterima ostao je gotovo nepromenjen, što se slaže sa rezultatima Van Ba i sar. (2016) koji su dodavali šitake gljivu, odnosno sa istraživanjem Ribas-Agusti i sar. (2014) koji su dodavali ekstrakte kakaoa i koštica grožđa u fermentisane kobasice. Palacios i sar. (2011) otkrili su da su od fenolnih komponenti u vrganju najzastupljenije su hlorogenska, *p*-kumarinska, homogentisinska i protokatehuinska kiselina, što doprinosi antioksidativnim svojstvima i stabilnosti ovih fenolnih komponenti tokom skladištenja frankfurtera.



Grafik 6. Sadržaj ukupnih fenola u frankfurterima tokom skladištenja.

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti sa različitim malim slovom (a-c) u istoj koloni (za različite tretmane) značajno se razlikuju ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-B) na istoj liniji grafika (za isti tretman u različito vreme skladištenja) razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

#### 5.1.4. Antioksidativne karakteristike frankfurtera sa dodatkom *Boletus edulis*

##### 5.1.4.1. Antioksidativna aktivnost frankfurtera tokom skladištenja merena sposobnošću hvatanja ABTS radikala

Dekokt vrganja pokazao je veoma izraženu sposobnost hvatanja ABTS radikala *in vitro*, a dalje je ovaj potencijal nastavljen i u frankfurterima tokom skladištenja. Kao što se može videti u Tabeli 4, dodatak dekokta ove gljive pozitivno je uticao na sposobnost neutralizacije ABTS radikala u svim tretmanima sa dokazanom statističkom značajnošću tokom perioda skladištenja od 40 dana. Značajna razlika uočena je odmah nakon proizvodnje kobasica i održala se tokom 40 dana skladištenja. Međutim, od četrdesetog do šezdesetog dana T1 formulacija pokazala je značajno veće sposobnosti neutralizacije slobodnih radikala u odnosu na T2. Ovaj efekat može se pripisati prisustvu L-askorbinske kiseline u dekoku gljive, koja je prirodno prisutna u vrganju (Jaworska i sar., 2015). Viši procenat dekokta u frankfurterima sa vrganjom unosi više ovog prirodnog antioksidansa, koji može delovati i kao prooksidant kad je prisutan u većim koncentracijama, a posebno u prisustvu viška gvožđa, kao što je to slučaj u proizvodima od mesa (Kucharski i Zajac, 2009). Prooksidativna aktivnost možda nije počela odmah, jer su verovatno druge antioksidativne komponente (polifenoli) bili aktivni tokom prvih 40 dana skladištenja. Pik antioksidativne aktivnosti dobijen je nakon 20 dana skladištenja. U sledeće tri nedelje, procenat neutralizacije ABTS radikala polako je opadao, dok je pad bio oštiji između četrdesetog i šezdesetog dana.

Ovi rezultati potvrdili su da su antioksidativna jedinjenja prisutna u vrganju koji je rastao u prirodi bila stabilna tokom veoma dugog vremenskog perioda, čak i u kombinaciji sa drugim sastojcima, kao što je to slučaj kod frankfurtera. Sličan trend uočen je i u slučaju dodavanja ekstrakta *Lentinus edodes* prilikom dodavanja u frankfurtere, kao što su potvrdili Pil-Nam i sar. (2015), kao i u fermentisane kobasice (Van Ba i sar., 2016).

Tabela 4. Neutralizacija ABTS radikala (%) tokom skladištenja frankfurtera.

Parametar	Vreme skladištenja (dani)	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>
ABTS (%)	1	31,61±0,22 <sup>a,A</sup>	40,73±0,15 <sup>b,A</sup>	22,30±0,12 <sup>c,A</sup>
	20	46,80±1,01 <sup>a,B</sup>	65,98±0,17 <sup>b,B</sup>	67,07±0,81 <sup>b,B</sup>
	40	49,78±0,75 <sup>a,C</sup>	46,09±0,36 <sup>b,C</sup>	32,69±1,14 <sup>c,C</sup>
	60	30,48±0,44 <sup>a,A</sup>	24,99±0,47 <sup>b,D</sup>	42,81±0,60 <sup>c,D</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-D) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

#### 5.1.4.2. Sadržaj malondialdehida (TBARS test)

Oksidacija lipida ispitana je određivanjem stepena TBARS vrednosti (mg malondialdehida/kg). Prvi dan nakon proizvodnje, TBARS vrednosti za T1 i T2 bile su značajno niže u poređenju sa C (Tabela 5). Ovo je najverovatnije posledica prisustva fenolnih komponenti u gljivi, jedinjenja koja su u najvećoj meri odgovorna za antioksidativnu aktivnost većine biljaka (Barros i sar., 2011a). Ovi rezultati su u skladu sa literaturnim podacima, dobijenim za sličan tip proizvoda od mesa (Hwang i sar., 2015). Pored toga, dodatak vrganja značajno je smanjio TBARS vrednosti kod T1 i T2 u svakom vremenskom preseku vršenih analiza, a u poređenju sa C. U odnosu na kontrolni uzorak, frankfurteri sa dodatkom gljivom imali su u pojedinim vremenskim presecima i nekoliko puta niže vrednosti. Treba napomenuti da su sve TBARS vrednosti bile značajno niže od 1, vrednosti za koju je Ockerman (1985) utvrdio da je granica pojave užglosti u proizvodima od mesa.

Tokom skladištenja uočen je trend rasta, a zatim pada TBARS vrednosti. U literaturi je opisano da se pad vrednosti TBARS može pripisati stvaranju malondialdehida kao intermedijernog proizvoda; do određenog trenutka stopa stvaranja malondialdehida bila je viša od stope nestajanja, a nakon toga bilo je obrnuto. Dakle, stopa nestanka premašuje stopu stvaranja, pa su stoga TBARS vrednosti opale (Bhattacharya, Hanna, & Mandigo, 1988). Takođe, prema ispitivanju Jamora i Rhee (2002), formiranje malondialdehida tokom skladištenja proizvoda od mesa može biti podvrgnuto intermolekularnim reakcijama (polimerizaciji) i reakciji sa ostalim konstituentima, a posebno amino-kiselinama/proteinima. Pošto je u ovom istraživanju korišćen dekokt gljive, koji predstavlja kompleksnu smešu polisaharida, proteina, peptida i slobodnih amino-kiselina, vrlo je izvesno da se pojavila polimerizacija. Stoga, nestanak malondialdehida tokom skladištenja može biti viši od stope formiranja proizvoda oksidacije lipida.

Tabela 5. TBARS vrednosti frankfurtera tokom skladištenja, izražena kao mg malondialdehida/kg uzorka.

Parametar	Vreme skladištenja (dani)	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>
MDA/kg	1	0,17±0,02 <sup>a,A,C</sup>	0,22±0,02 <sup>a,A</sup>	0,56±0,02 <sup>b,A</sup>
	10	0,26±0,02 <sup>a,A</sup>	0,33±0,01 <sup>b,B</sup>	0,71±0,02 <sup>c,B</sup>
	20	0,54±0,04 <sup>a,B</sup>	0,20±0,11 <sup>b,A,C</sup>	0,59±0,02 <sup>a,A,C</sup>
	30	0,21±0,02 <sup>a,A,C</sup>	0,17±0,01 <sup>a,A,C</sup>	0,63±0,01 <sup>b,B,C</sup>
	40	0,13±0,01 <sup>a,C,D</sup>	0,16±0,01 <sup>a,C</sup>	0,6±0,05 <sup>b,A,B,C</sup>
	50	0,09±0,01 <sup>a,D</sup>	0,12±0,01 <sup>b,C</sup>	0,37±0,01 <sup>c,D</sup>
	60	0,03±0,01 <sup>a,E</sup>	0,04±0,02 <sup>a,D</sup>	0,16±0,01 <sup>b,E</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-E) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.1.5. Osnovni hemijski sastav, instrumentalno određivanje boje i promene pH vrednosti

Rezultati osnovnog hemijskog sastava dobijeni dodatkom gljive bili su u normalnim granicama za proizvode ovog tipa (Tabela 6) (McGough i sar., 2012; Pil-Nam i sar., 2015). Dodatak vrganja u manjoj meri smanjio je sadržaj vlage i povećao sadržaj proteina, što je u skladu i sa rezultatima Stefanello i sar. (2015), koji su dodavali prah gljive sunčanice (*Macrolepiota procera*) u sveže svinjske kobasice. Porast sadržaja proteina u tretmanima sa dodatkom gljivom verovatno je posledica relativno visokog sadržaja proteina koji se prirodno nalaze u vrganju (Arora, 1986).

Tabela 6. Osnovni hemijski sastav frankfurtera (dan 1).

Parametar	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>
Vlaga	54,07±0,15 <sup>a</sup>	57,53±0,32 <sup>b</sup>	57,67±1,22 <sup>b</sup>
Ukupni proteini	12,69±0,75 <sup>a</sup>	11,88±0,08 <sup>a</sup>	10,91±0,17 <sup>b</sup>
Masti	28,40±0,13 <sup>a</sup>	28,01±0,59 <sup>a</sup>	29,31±1,21 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Skracenicne su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3 uzorka od svake serije x 2 ponavljanja). Vrednosti sa razlicitom malim slovima (a-b) u istom redu razlikuju se znacajno ( $P < 0,05$ ).

Boja mesa jedan je od najznacajnijih faktora pomocu kojeg potrosaci odreduju kvalitet mesa i proizvoda od mesa (Cachaldora i sar., 2013). Parametri boje u ispitivanim frankfurterima, kao sto su svetloca ( $L^*$ ), udeo crvene boje ( $a^*$ ) i udeo zute boje ( $b^*$ ), prikazani su u Tabeli 7. Dodatak vrganja u frankfurtere (T1, T2) doveo je do znacajno manje ( $P < 0,05$ )  $L^*$  vrednosti (svetloca), u poređenju sa kontrolnim uzorkom, a u svim vremenskim presecima vršenja analiza tokom skladištenja. Posmatrajuci  $b^*$  vrednost (udeo zute boje), frankfurteri sa dodatkom gljivom imali su statisticki više vrednosti u odnosu na kontrolu. Pad vrednosti u svetloci i rast udela zute boje verovatno je rezultat zagasitosti prirodne boje koja se javlja dodatkom gljive. Slicne rezultate za svetloca i udeo zute boje otkrili su Pil-Nam i sar. (2015), koji su dodavali prah gljive sitake (*Lentinus edodes*) u frankfurtere. Vrednosti udela crvene boje ( $a^*$ ) bile su znacajno više ( $P < 0,05$ ) u frankfurterima sa dodatim gljivama, a u poređenju sa kontrolnim uzorkom, osim ispitivanja koje je obavljeno šezdeseti dan od dana proizvodnje. Boja kobasica znacajno se promenila pod uticajem vremena skladištenja, dok se jedino za parametar udela crvene boje ( $a^*$ ) može reci da je pokazao rastuci trend. Slicne rezultate za udeo crvene boje dokazali su Armenteros i sar. (2013), koji su dodavali prirodne antioksidanse iz *Arbutus unedo L.* i *Rosa canina L.*

Da bi bili sigurni da dodatak gljive menja boju frankfurtera, izracunata je  $\Delta E$  vrednost. To je vrednost iz  $L^* a^* b^*$  koordinatnog sistema boja, koja može biti detektovana ljudskim okom jedino u slucaju kada je vrednost  $\Delta E$  veća od 3 (Fernández-López i sar., 2019). U ovom istraživanju,  $\Delta E$  vrednost bila je viša od 3 u svakom pojedinačnom preseku kada su vršene analize (1, 20, 40, 60 dan), pa se može reci da dodatak vrganja u određenom stepenu menja boju finalnog proizvoda tokom skladištenja. U poređenju sa dodatkom 0,5-5,0% brašna od koštica grozda ili suncokretovog ulja, koji su uzrokovali

značajan pad u vrednosti svetloće, udela crvene i udela žute boje (Choi i Sapers, 1994; Özvural i Vural, 2011), dodatak vrganja imao je trivijalni uticaj na promenu parametara boje finalnog proizvoda.

Tabela 7. CIELAB koordinate boje ( $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$ ), ukupna razlika u promeni boje ( $\Delta E$ ) u odnosu na kontrolni uzorak i pH vrednosti tokom skladištenja frankfurtera.

Parametar	Vreme skladištenja (dani)	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>
CIE $L^*$	1	69,23±2,09 <sup>a,A</sup>	64,52±2,3 <sup>b,A</sup>	75,28±1,88 <sup>c,A</sup>
	20	70,07±1,67 <sup>a,B</sup>	65,57±2,27 <sup>b,B</sup>	75,32±1,49 <sup>c,A</sup>
	40	69,03±2,69 <sup>a,A</sup>	65,73±3,02 <sup>b,B</sup>	76,25±1,45 <sup>c,A</sup>
	60	69,13±1,8 <sup>a,A</sup>	65,27±2,32 <sup>b,B</sup>	74,79±1,34 <sup>c,A</sup>
CIE $a^*$	1	8,89±0,89 <sup>a,A,B</sup>	9,05±0,71 <sup>a,A</sup>	7,48±0,86 <sup>b,A</sup>
	20	9,14±0,78 <sup>a,B,C</sup>	9,62±0,75 <sup>b,B,C</sup>	8,59±0,76 <sup>c,B</sup>
	40	10,45±1,07 <sup>a,D</sup>	10,31±0,89 <sup>a,D</sup>	9,39±1,07 <sup>b,C</sup>
	60	9,57±0,81 <sup>a,E</sup>	9,83±0,78 <sup>b,C</sup>	10,03±0,85 <sup>b,D</sup>
CIE $b^*$	1	8,48±0,89 <sup>a,A</sup>	10,59±0,84 <sup>b,A</sup>	4,17±0,73 <sup>c,A</sup>
	20	7,07±0,78 <sup>a,B</sup>	10,15±0,74 <sup>b,B</sup>	3,84±0,64 <sup>c,A,B</sup>
	40	9,80±0,70 <sup>a,C</sup>	11,26±1,13 <sup>b,C</sup>	3,35±0,57 <sup>c,C</sup>
	60	9,07±0,94 <sup>a,D</sup>	11,19±0,81 <sup>b,C</sup>	4,74±0,73 <sup>c,D</sup>
$\Delta E$	1	7,56±0,23 <sup>a,A</sup>	12,63±0,38 <sup>b,A</sup>	-
	20	5,87±0,16 <sup>a,B</sup>	11,65±0,81 <sup>b,B</sup>	-
	40	9,74±0,92 <sup>a,C</sup>	10,93±1,28 <sup>b,C</sup>	-
	60	7,14±0,63 <sup>a,A</sup>	9,52±0,78 <sup>b,D</sup>	-
pH	1	6,16±0,01 <sup>a,A</sup>	6,13±0,01 <sup>b,A</sup>	6,17±0,02 <sup>a,A,B</sup>
	20	6,16±0,01 <sup>a,A</sup>	6,13±0,01 <sup>b,A</sup>	6,19±0,02 <sup>c,B,C</sup>
	40	6,10±0,04 <sup>a,B</sup>	6,09±0,03 <sup>a,A,B</sup>	6,18±0,05 <sup>b,A,B</sup>
	60	6,06±0,02 <sup>a,b,B</sup>	6,03±0,04 <sup>b,B</sup>	6,11±0,06 <sup>a,A</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3 uzorka od svake grupe proizvoda x 5 tačaka unutrašnjeg preseka). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-D) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

Kao što je prikazano u Tabeli 7, pH vrednosti bile su u rasponu 6,03 – 6,19, što predstavlja normalne granice za proizvode ovog tipa (Bloukas i Paneras, 1993b). Šezdeseti dan skladištenja došlo je do blagog pada pH vrednosti za svaki od tretmana, a u poređenju sa prvim danom nakon proizvodnje. Verovatno je pad pH vrednosti posledica formiranja mlečne kiseline od organskih kiselina iz ugljenih hidrata (Wójciak i sar., 2014a). Skoro identičan trend tokom skladištenja kobasica pokazali su u svom ispitivanju Ranucci i sar. (2018).

### 5.1.6. Instrumentalno merenje teksture primenom analize teksturalnog profila (TPA) i “Warner-Bratzler Shear Force” testa (WBSF)

Prvog dana skladištenja nije bilo statistički značajne razlike za parametre čvrstoće i elastičnosti, između frankfurtera kojima je dodavan vrganj (*B. edulis*), i kontrolnog uzorka (Tabela 8). Pored toga, nije pronađena statistički značajna razlika u elastičnosti kobasica tokom skladištenja, za sva tri

tretmana. Sa izuzetkom prvog ispitivanja (prvi presek, dan 1), dodatak vrganja u kobasice rezultovao je značajno većom ( $P < 0,05$ ) čvrstoćom za T1 i T2, a u poređenju sa C, tokom svakog sledećeg ispitivanja u toku 60 dana skladištenja. Ovakav rezultat verovatno je posledica toga što vrganj već poseduje određenu količinu proteina. Dodavanje nemesnih proteina u mesne emulzije rezultuje čvršćom teksturom, a zbog formiranja gušćeg proteinskog matriksa, koji je otporniji na kompresiju (Youssef i sar., 2011). Pored toga, rezultati osnovnog hemijskog sastava pokazali su niži sadržaj masti (T1, T2) u poređenju sa kontrolnom grupom kobasica, što takođe sa povećanim sadržajem proteina doprinosi čvršćoj teksturi kobasica.

Kobasice sa dodatim vrganjem imale su veće vrednosti gumoznosti i žvkljivosti, u odnosu na kontrolni uzorak. Rezultati gumoznosti pokazuju da je potrebno više energije kako bi se sažvakao uzorak T1 i T2. Ovo je uzrok povećane vrednosti za čvrstoću, jer je po definiciji gumoznost = čvrstoća x kohezivnost (Bourne, 1982), a nije nađena statistički značajna razlika u kohezivnosti tokom skladištenja. Matriks kod proteinskog gela u tretmanima sa dodatom gljivom je čvršći i žvkljiviji, a njegova tekstura je privlačnija za potrošače (Wang i sar., 2009). Slične rezultate kao u ovom ispitivanju objavili su Pil-Nam i sar. (2015), za sve parametre teksture koje su ispitivali.

Pintado i sar. (2016) utvrdili su povišene vrednosti za čvrstoću frankfurtera sa dodatim čija semenkama (*Salvia hispanica L.*) u obliku emulzije ili emulzionog gela. Nasuprot rezultatima iz ovog istraživanja, čvrstoća i ostali povezani teksturalni parametri kao što je gumoznost dramatično su se smanjili tokom skladištenja, kada su dodati prirodni antioksidansi iz *Arbutus unedo L.* i *Rosa canina L.* (Armenteros i sar., 2013).

Vreme skladištenja nije značajno uticalo na teksturalne parametre ako poredimo prvi dan nakon proizvodnje i poslednji dan skladištenja kobasica, što je dokaz dobrih emulgujućih sposobnosti mesnih proteina korišćenih prilikom proizvodnje, kao i dobre stabilnosti samog proizvoda tokom čuvanja u hladnjači.

Najčešće upotrebljavana instrumentalna analiza za merenje teksture mesa jeste „Warner-Bratzler Shear Force“ test, odnosno test smicanja. Ovaj test meri maksimalnu snagu (N) koja predstavlja funkciju kretanja noža (mm) i kompresije da bi se presekao uzorak mesa (MPa). Rezultati ovih merenja prikazuju se kao čvrstoća mesa. U industriji hrane, reč smicanje u ovom kontekstu opisuje bilo koju radnju koja razdvaja/seče proizvod na dva fragmenta (Novaković i Tomašević, 2017).

Kao što je i analiza teksturalnog profila primenom dvostruke kompresije potvrdila, i WBSF test pokazao je da su frankfurteri sa dodatkom vrganja bili čvršći u odnosu na kontrolni uzorak. Kao što je već objašnjeno, verovatni razlog za povećanu čvrstoću tretmana sa dodatom gljivom jeste veći sadržaj proteina u finalnom proizvodu, koji doprinosi boljim emulgujućim svojstvima, a isto tako i



čvršćim gelom nakon toplotne obrade. Pored toga, Trout i sar. (1992) dokazali su da što je niži sadržaj masti u uzorku, veći je napon smicanja u mesnim proizvodima, a to se može primetiti u osnovnom hemijskom sastavu frankfurtera, čiji je sadržaj lipida niži u uzorcima sa dodatom gljivom nego u kontrolnom uzorku. Tokom skladištenja, jedino uzorak sa višim sadržajem gljive nije pokazao značajnu razliku između prvog i šezdesetog dana analize, i za razliku od T1 i C, jedini garantuje dobru stabilnost proizvoda tokom čuvanja, merenu ovom metodom.

Tabela 8. Parametri teksturalnog profila frankfurtera tokom skladištenja.

Analiza teksturalnog profila	Vreme skladištenja (dani)	T1	T2	C
Čvrstoća (N)	1	2,08±0,11 <sup>a,A</sup>	2,11±0,12 <sup>a,A</sup>	2,00±0,15 <sup>a,A</sup>
	10	1,98±0,14 <sup>a,A</sup>	2,05±0,09 <sup>a,A</sup>	1,77±0,06 <sup>b,A,B</sup>
	20	2,24±0,14 <sup>a,A</sup>	2,11±0,10 <sup>a,A</sup>	1,75±0,17 <sup>b,A,B</sup>
	30	1,80±0,08 <sup>a,A</sup>	2,19±0,22 <sup>a,A</sup>	1,63±0,07 <sup>b,B</sup>
	40	1,92±0,09 <sup>a,A</sup>	2,09±0,07 <sup>a,A</sup>	1,69±0,11 <sup>b,A,B</sup>
	50	1,97±0,06 <sup>a,A</sup>	2,10±0,14 <sup>a,A</sup>	1,62±0,17 <sup>b,B</sup>
	60	2,02±0,09 <sup>a,A</sup>	2,07±0,19 <sup>a,A</sup>	1,68±0,15 <sup>b,A,B</sup>
Elastičnost	1	0,95±0,02 <sup>a,A,B</sup>	0,95±0,02 <sup>a,A,B</sup>	0,95±0,02 <sup>a,A,B</sup>
	10	0,95±0,02 <sup>a,A,B</sup>	0,96±0,02 <sup>a,A,B</sup>	0,96±0,03 <sup>a,A,B</sup>
	20	0,97±0,01 <sup>a,A</sup>	0,98±0,02 <sup>a,A</sup>	0,95±0,04 <sup>a,A</sup>
	30	0,95±0,05 <sup>a,A,B</sup>	0,97±0,03 <sup>a,A,B</sup>	0,94±0,02 <sup>a,A,B</sup>
	40	0,95±0,01 <sup>a,B</sup>	0,94±0,03 <sup>a,B</sup>	0,93±0,02 <sup>a,B</sup>
	50	0,96±0,01 <sup>a,A,B</sup>	0,97±0,01 <sup>a,A,B</sup>	0,95±0,04 <sup>a,A,B</sup>
	60	0,95±0,02 <sup>a,A,B</sup>	0,94±0,02 <sup>a,A,B</sup>	0,96±0,02 <sup>a,A,B</sup>
Kohezivnost	1	0,85±0,02 <sup>ab</sup>	0,85±0,01 <sup>a</sup>	0,82±0,02 <sup>b</sup>
	10	0,83±0,02 <sup>ab</sup>	0,85±0,01 <sup>a</sup>	0,81±0,03 <sup>b</sup>
	20	0,85±0,03 <sup>ab</sup>	0,86±0,02 <sup>a</sup>	0,83±0,03 <sup>b</sup>
	30	0,82±0,06 <sup>ab</sup>	0,86±0,00 <sup>a</sup>	0,82±0,03 <sup>b</sup>
	40	0,85±0,01 <sup>ab</sup>	0,85±0,01 <sup>a</sup>	0,84±0,01 <sup>b</sup>
	50	0,85±0,02 <sup>ab</sup>	0,86±0,01 <sup>a</sup>	0,84±0,06 <sup>b</sup>
	60	0,86±0,02 <sup>ab</sup>	0,83±0,06 <sup>a</sup>	0,86±0,03 <sup>b</sup>
Gumoznost (N)	1	1,76±0,10 <sup>ab,A</sup>	1,80±0,10 <sup>a,A</sup>	1,65±0,10 <sup>b,A</sup>
	10	1,63±0,09 <sup>a,A,B</sup>	1,74±0,09 <sup>a,A</sup>	1,44±0,09 <sup>b,A,B</sup>
	20	1,90±0,16 <sup>a,A</sup>	1,80±0,12 <sup>a,A</sup>	1,45±0,17 <sup>b,A,B</sup>
	30	1,41±0,13 <sup>a,B</sup>	1,89±0,19 <sup>b,A</sup>	1,35±0,09 <sup>a,B</sup>
	40	1,63±0,10 <sup>a,A,B</sup>	1,78±0,08 <sup>a,A</sup>	1,42±0,08 <sup>c,A,B</sup>
	50	1,68±0,05 <sup>a,A,B</sup>	1,82±0,13 <sup>a,A</sup>	1,36±0,21 <sup>b,A,B</sup>
	60	1,74±0,08 <sup>a,A</sup>	1,74±0,25 <sup>a,A</sup>	1,44±0,15 <sup>a,A,B</sup>
Žvakljivost (N)	1	1,66±0,08 <sup>a,A</sup>	1,70±0,11 <sup>a,A</sup>	1,56±0,11 <sup>a,A</sup>
	10	1,56±0,11 <sup>a,A,B</sup>	1,66±0,08 <sup>a,A</sup>	1,39±0,09 <sup>b,A,B</sup>
	20	1,85±0,17 <sup>a,A</sup>	1,75±0,11 <sup>a,A</sup>	1,39±0,10 <sup>b,A,B</sup>
	30	1,36±0,17 <sup>a,B</sup>	1,83±0,22 <sup>b,A</sup>	1,27±0,10 <sup>a,B</sup>
	40	1,56±0,10 <sup>a,A,B</sup>	1,68±0,09 <sup>a,A</sup>	1,31±0,08 <sup>b,A,B</sup>
	50	1,61±0,06 <sup>a,A,B</sup>	1,76±0,13 <sup>a,A</sup>	1,30±0,24 <sup>b,A,B</sup>
	60	1,65±0,08 <sup>a,A</sup>	1,63±0,26 <sup>a,A</sup>	1,38±0,14 <sup>a,A,B</sup>
Čvrstoća "WBSF" (N)	1	9,02±1,32 <sup>a,A,C</sup>	7,04±1,30 <sup>b,A,B</sup>	7,26±0,96 <sup>b,A</sup>
	10	7,7±1,32 <sup>a,A,B,C</sup>	6,82±1,13 <sup>ab,A,B</sup>	5,50±0,94 <sup>b,A,B</sup>
	20	6,82±1,11 <sup>a,B,D</sup>	5,72±0,96 <sup>a,B</sup>	5,94±1,11 <sup>a,A,B</sup>
	30	8,36±1,32 <sup>a,A,C</sup>	5,94±1,18 <sup>b,B</sup>	5,28±0,88 <sup>b,B</sup>
	40	10,56±1,15 <sup>a,A</sup>	8,36±1,44 <sup>b,A</sup>	6,82±0,90 <sup>b,A,B</sup>
	50	7,48±1,22 <sup>a,B,C,D</sup>	6,82±1,14 <sup>a,A,B</sup>	4,84±0,83 <sup>b,B</sup>
	60	6,16±1,23 <sup>a,D</sup>	6,16±0,95 <sup>a,A,B</sup>	4,84±0,85 <sup>a,B</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

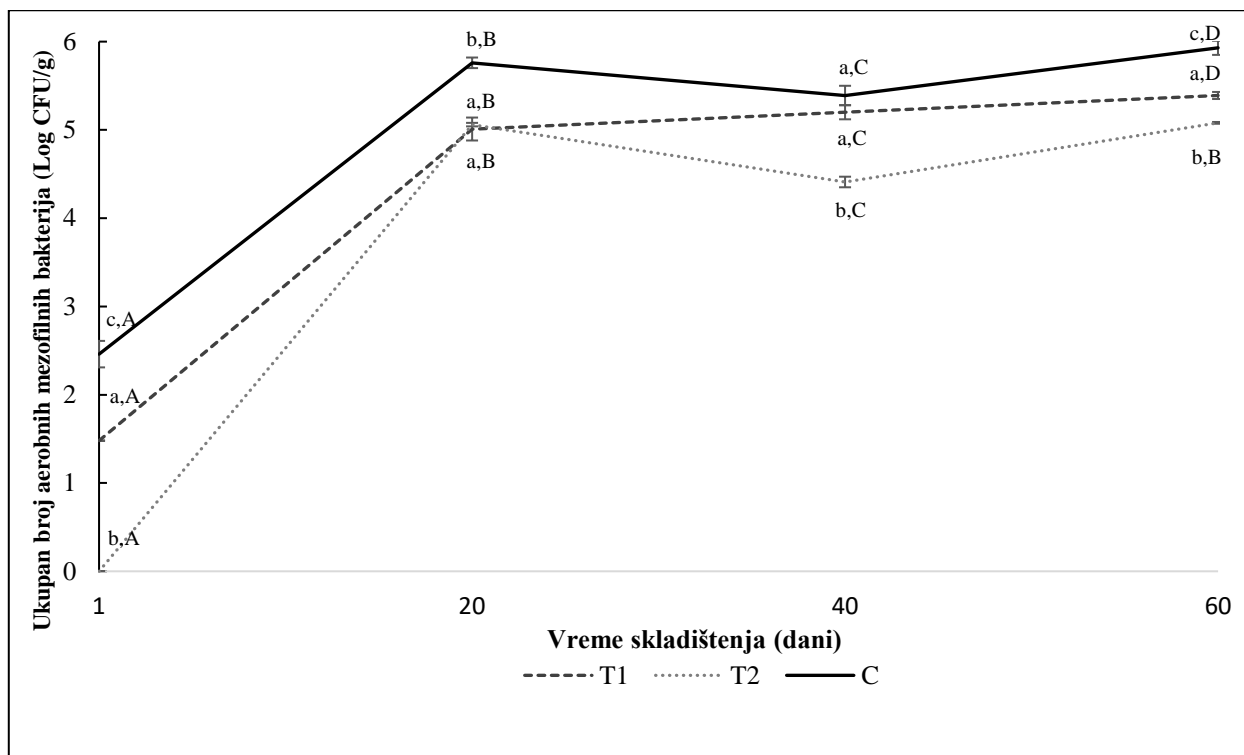
<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija (N = 8 specimenta x 3 uzorka iz svake grupe). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-B) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.1.7. Mikrobiološki profil

Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (engl. TPC – „total plate count“) smatra se indikatorom kvara proizvoda od mesa tokom hladnog skladištenja. Prvi dan ispitivanja, statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) uočena je između kobasica sa dodatim vrganjem i kontrolne grupe (Grafik 7). Više vrednosti TPC dobijene su za kontrolnu grupu, nešto niže za tretman sa manjom koncentracijom gljive, dok je tretman sa višom koncentracijom imao logaritamsku vrednost 0. Kosanic i sar. (2013) dokazali su da ekstrakt vrganja ima jak antimikrobni efekat, što je verovatno posledica hemijskih jedinjenja koja se već nalaze u samoj gljivi. Takođe, Smânia i sar. (1995) utvrdili su da su gljive dobar izvor prirodnih antibiotika, te da se antimikrobni mehanizmi fenola u gljivama povezuju sa hidroksilacijom hidroksilne grupe fenolnog prstena, što rezultuje većom antimikrobnom aktivnošću (Kurćubić i sar., 2014). Dvadeseti dan skladištenja, vrednosti TPC za tretmane sa dodatom gljivom bili su identični, dok je kontrola pokazala statistički značajno višu vrednost. Sličan trend nastavio se četrdeseti i šezdeseti dan ispitivanja. Vreme skladištenja značajno ( $P < 0,05$ ) je uticalo na povećanje broja mezofilnih mikroorganizama, što je takođe potvrđeno i u prethodnim studijama (Fernández-López i sar., 2019; Ranucci i sar., 2018)

Horita i sar. (2016) prikazali su u svom istraživanju da je dodatak belog luka i njegovih pratećih proizvoda pokazao dobre antimikrobne karakteristike nakon polovine vremena skladištenja frankfurtera (30 dana), što je u saglasnosti sa rezultatima ovog ispitivanja, dok je na kraju skladištenja (60. dan), u frankfurterima sa dodatim vrganjem bila manja vrednost TPC u odnosu na frankfurtere sa dodatkom belog luka. Redukovanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija takođe su utvrdili Van Ba i sar. (2016), koji su dodavali šitake gljivu (*Lentinus eddodes*) u fermentisane kobasice.

Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija u ovoj studiji (T1, T2) na kraju skladištenja (60. dan) bio je manji, u poređenju sa frankfurterima kojima je dodavana gljiva *Lentinus eddodes* (Pil-Nam i sar., 2015), u ispitivanju koje je rađeno trideseti dan od momenta proizvodnje. Prisustvo *Salmonella* spp., *E. coli*, *L. monocytogenes*, koagulaza pozitivnih stafilokoka i sulfitoredukujućih klostridija nije potvrđeno ni u jednoj od ispitivanih grupa frankfurtera.



Grafik 7. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (TPC)

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti sa različitim malim slovom (a-c) u istoj koloni (za različite tretmane) značajno se razlikuju ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-D) na istoj liniji grafika (za isti tretman u različito vreme skladištenja) razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.1.8. Procena senzorske prihvatljivosti proizvoda

Senzorske osobine barenih kobasica u tipu frankfurtera tokom skladištenja prikazane su u Tabeli 9. Nije utvrđena statistički značajna razlika ( $P > 0,05$ ) između tretmana sa dodatkom gljivom i tretmana bez gljive u pogledu mirisa, ukusa i ukupne prihvatljivosti. Slično sa rezultatima dobijenim u ovoj studiji, Van Ba i sar. (2016) prijavili su da nije bilo značajne razlike u pogledu mirisa, ukusa i ukupne prihvatljivosti prilikom dodavanja šitake gljive u fermentisane kobasice. Pil-Nam i sar. (2015) zaključili su da je dodatak šitake gljive u frankfurtere rezultovao boljim ( $P < 0,05$ ) ocenama za miris, ukus i ukupnu prihvatljivost finalnog proizvoda, u odnosu na kontrolni uzorak.

Tokom skladištenja, nije potvrđena statistički značajna razlika ( $P > 0,05$ ) između prvog i šezdesetog dana ispitivanja za svaki pojedinačni tretman u pogledu mirisa, ukusa i ukupne prihvatljivosti. Deda i sar. (2007) otkrili su da dodatak sosa od paradajza uzrokuje mane u pogledu ukusa, dok su Özvural i Vural (2011) utvrdili da dodatak ulja od koštica grožđa rezultuje padom ocena ukusa i ukupne prihvatljivosti frankfurtera. U cilju posmatranja efekta dodatka prirodnih jedinjenja na senzorska svojstva fermentisanih kobasica, Lorenzo i sar. (2013) utvrdili su da dodatak kestena i ekstrakata koštica grožđa rezultuje smanjenjem ocena boje, dok su Kurćubić i sar. (2014) objavili da nije bilo statistički značajne razlike ( $P > 0,05$ ) u ocenama boje, ukusa i ukupne prihvatljivosti u tretmanima sa dodatim ekstraktima biljke *Kitaibelia vitifolia* i kontrolne grupe fermentisanih kobasica.

Tabela 9. Senzorske karakteristike frankfurtera tokom skladištenja.

Senzorska ocena potrošača	Vreme skladištenja (dani)	T1	T2	C
Miris	1	5,50±2,30 <sup>A</sup>	5,00±2,60 <sup>A</sup>	5,60±2,40 <sup>A</sup>
	10	6,30±2,20 <sup>A,B</sup>	6,30±2,30 <sup>B,C</sup>	6,50±2,00 <sup>A,B</sup>
	20	7,10±1,60 <sup>B</sup>	7,10±1,80 <sup>C</sup>	6,70±1,90 <sup>A,B</sup>
	30	5,60±2,20 <sup>A</sup>	5,70±2,40 <sup>A,B</sup>	6,70±1,80 <sup>B</sup>
	40	5,90±2,40 <sup>A</sup>	6,20±2,40 <sup>B,C</sup>	7,00±2,10 <sup>B</sup>
	50	5,70±2,30 <sup>A</sup>	5,70±2,20 <sup>A,B</sup>	6,30±1,90 <sup>A,B</sup>
	60	5,30±1,60 <sup>A</sup>	5,30±1,50 <sup>A,B</sup>	6,10±1,50 <sup>A,B</sup>
Ukus	1	6,50±2,10 <sup>A,B,C</sup>	5,80±2,70 <sup>A</sup>	6,40±2,20 <sup>A</sup>
	10	7,20±1,80 <sup>B,C</sup>	7,10±1,80 <sup>B,C</sup>	7,50±1,60 <sup>B,C,D</sup>
	20	7,50±1,50 <sup>C</sup>	7,50±1,70 <sup>C</sup>	7,50±1,80 <sup>C,D</sup>
	30	6,60±1,80 <sup>A,B,C</sup>	6,40±2,10 <sup>A,B,C</sup>	7,40±1,40 <sup>B,C,D</sup>
	40	6,40±2,40 <sup>A,B</sup>	6,50±2,40 <sup>A,B,C</sup>	7,60±1,80 <sup>D</sup>
	50	5,90±2,20 <sup>A</sup>	6,10±2,10 <sup>A,B</sup>	6,60±2,00 <sup>A,B,C</sup>
	60	5,70±1,70 <sup>A,B</sup>	5,70±1,20 <sup>A,B</sup>	6,50±1,40 <sup>A,B</sup>
Ukupna prihvatljivost	1	6,30±2,10 <sup>A,B</sup>	5,60±2,50 <sup>A</sup>	6,20±2,10 <sup>A</sup>
	10	7,10±1,70 <sup>B,C</sup>	7,10±1,70 <sup>B,C</sup>	7,40±1,50 <sup>B</sup>
	20	7,60±1,60 <sup>C</sup>	7,50±1,80 <sup>C</sup>	7,40±1,70 <sup>B</sup>
	30	6,60±1,80 <sup>A,B,C</sup>	6,40±2,10 <sup>A,B,C</sup>	7,30±1,40 <sup>B</sup>
	40	6,30±2,50 <sup>A,B</sup>	6,40±2,40 <sup>A,B,C</sup>	7,40±2,00 <sup>B</sup>
	50	6,00±2,30 <sup>A</sup>	6,10±2,30 <sup>A,B</sup>	6,90±2,00 <sup>A,B</sup>
	60	5,90±1,80 <sup>A,B</sup>	5,80±1,40 <sup>A,B</sup>	6,50±1,50 <sup>A,B</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 50 ocenjivača po svakom danu ispitivanja). Nije bilo statistički značajne razlike između tretmana ( $P > 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-D) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.1.9. Zaključak

- Vrganj (*Boletus edulis*) je pokazao dobre antioksidativne karakteristike *in vitro*, te je upotrebljen u proizvodnji frankfurtera u obliku dekokta sa ukupnim koncentracijama od 0,75% i 1,50% u zamesu, sa ciljem smanjenja oksidacije lipida tokom skladištenja.
- Vrganj je pokazao antimikrobno dejstvo u odnosu na *E. coli* (20 mg/ml), *L. monocytogenes* (20 mg/ml) i *Y. enterocolitica* (10 mg/ml) *in vitro*, te mikrobicidni efekat prema *Y. enterocolitica* (20 mg/ml).
- Nije utvrđen značajan uticaj gljive na pH vrednost kobasica, dok je osnovni hemijski sastav bio blago izmenjen, i to u pravcu rasta sadržaja ukupnih proteina i smanjenju sadržaja masti u frankfurterima sa dodatom gljivom.
- Dodatak vrganja uticao je na povećanje sadržaja ukupnih fenola u frankfurterima, što je rezultiralo boljom antioksidativnom aktivnošću u odnosu na kontrolni uzorak, te redukovanim sadržajem ukupne količine sekundarnih proizvoda oksidacije tokom skladištenja, merene TBARS testom.

- Dodatak vrganja smanjio je ukupnu količinu aerobnih mezofilnih bakterija u odnosu na kontrolnu grupu kobasica, tokom šezdeset dana skladištenja, učinivši kobasice mikrobiološki ispravnim i produživši im rok trajanja na dva mesecas.
- Teksturalna svojstva frankfurtera obogaćenih dekoktom gljive nisu bila narušena. Naprotiv, tekstura kobasica kojima je dodata gljiva bila je čvršća, sa elementima veće žvkljivosti, što je vrlo cenjena osobina kod potrošača i doprinosi stabilnosti finalnog proizvoda tokom celokupnog skladištenja.
- Frankfurteri sa dodatim dekoktom gljiva promenili su u manjem obimu boju finalnog proizvoda.
- Dodatak gljive u kobasice nije imao negativnog uticaja na senzorske karakteristike tokom skladištenja.

## **5.2. *Cantharellus cibarius* - antioksidativni i antimikrobni potencijal i uticaj dodatka ove vrste gljive na kvalitet frankfurtera**

### **5.2.1. *Antioksidativne karakteristike dekokta C. cibarius in vitro***

Kao i kod vrganja, antioksidativna aktivnost lisičarke testirana je kroz 6 antioksidativnih metoda, da bi se dobila što kompletnija slika o antioksidativnom kapacitetu same gljive.

#### **5.2.1.1. *Sposobnost hvatanja slobodnih DPPH radikala***

Jedna od najčešće korišćenih metoda za određivanje antioksidativne aktivnosti je sposobnost hvatanja DPPH radikala (Abdullah i sar., 2012), a bazirana je na merenju sposobnosti neutralizacije antioksidanta u odnosu na stabilni DPPH radikal. Antioksidativna aktivnost dekokta *C. cibarius* i komercijalnih antioksidanasa, merena DPPH metodom prikazana je u Tabeli 10. Sposobnost hvatanja DPPH radikala zavisila je od koncentracije gljive. U poređenju sa askorbinskom kiselinom, dekokt lisičarke pokazao je slabiji efekat pri svakoj testiranoj koncentraciji, dok u poređenju sa BHT, dekokt gljive pokazao je gotovo identičnu efikasnost, sa izuzetkom koncentracije od 10 mg/ml, kada je BHT bio značajno aktivniji.

Sposobnost hvatanja slobodnih DPPH radikala može takođe biti izražena i u formi EC<sub>50</sub>, efektivne koncentracije dekokta gljive pri kojoj je postignuto 50% antioksidativne aktivnosti. Niža EC<sub>50</sub> vrednost odgovara višoj antioksidativnoj efikasnosti. Puttaraju i sar. (2006) objavili su da je vreli vodeni ekstrakt *C. cibarius* među 23 samonikle gljive Indije zauzeo dvadeset prvo mesto sa EC<sub>50</sub> vrednošću od 6,40 mg/ml. Rezultat dobijen u ovoj studiji (7,41 mg/ml) odgovara rezultatu koji su objavili Puttaraju i sar. (2006) i takođe bi zauzeo istu poziciju među testiranim gljivama. S druge strane, Abdullah i sar. (2012) ispitivali su sposobnost neutralizacije slobodnih radikala 14 medicinskih, jestivih gljiva i prikazali antioksidativni efekat u opsegu 5,28-39,05 (mg/ml). Jedino je

gljiva *G. lucidum* prikazala bolji antioksidativni potencijal od dekokta lisičarke, sa vrednošću EC<sub>50</sub> od 5,28 mg/ml.

Vreli vodeni ekstrakt *Ganoderma tsugae* Murrill pokazao je izvanrednu antioksidativnu aktivnost zrele i mlade gljive sa vrednostima 0,30 i 0,40 mg/ml, redom. U svojoj studiji Chirinang i Intarapichet (2009) objavili su da je vodeni ekstrakt gljive *Pleurotus ostreatus* (EC<sub>50</sub> = 11,56 mg/ml) bio efikasniji u odnosu na *P. sajorcaju* (EC<sub>50</sub> = 13,38 mg/ml). *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea* and *Boletus edulis* imali su slabiju antioksidativnu aktivnost merenu istim testom, sa EC<sub>50</sub> vrednostima od 13,75, 26,98 i 15,78 mg/ml, redom (Tsai i sar., 2007b). Generalno gledano, dekokt lisičarke ispitivan u ovoj studiji DPPH testom pokazao je umerenu antioksidativnu aktivnost u poređenju sa ostalim vrstama gljiva.

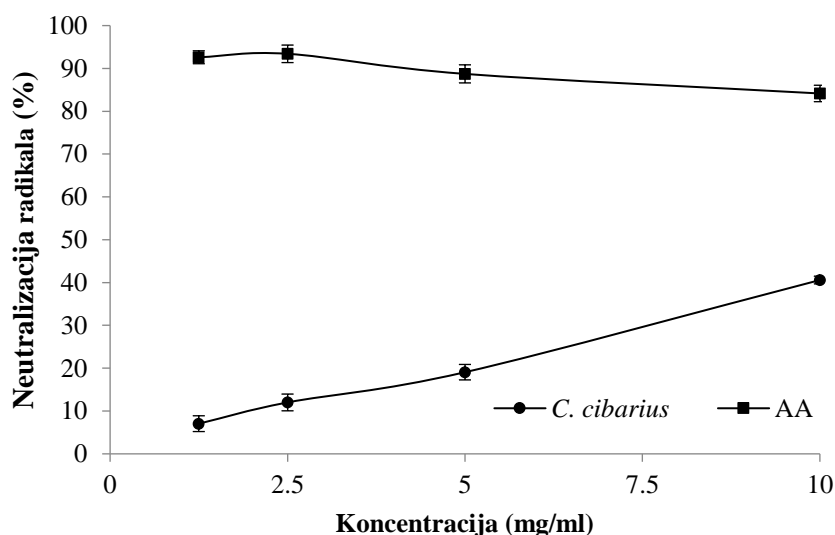
Tabela 10. Antioksidativne karakteristike dekokta *C. cibarius* merene DPPH testom.

Koncentracija (mg/ml)	<i>C. cibarius</i>	Askorbinska kiselina	Butil hidroksitoluen (BHT)
0,1	12,72±10,02 <sup>a,A</sup>	81,33±1,11 <sup>b,A</sup>	5,56±1,17 <sup>c,A</sup>
1	13,43±2,95 <sup>a,A</sup>	83,65±0,09 <sup>b,B</sup>	10,51±0,70 <sup>a,B</sup>
2,5	20,57±1,85 <sup>a,A,B</sup>	83,38±0,15 <sup>b,B</sup>	21,10±1,00 <sup>a,C</sup>
5	26,08±9,15 <sup>a,B</sup>	84,38±0,26 <sup>b,B</sup>	32,93±1,81 <sup>a,D</sup>
10	31,20±1,10 <sup>a,B</sup>	81,07±0,49 <sup>b,A</sup>	54,12±1,00 <sup>c,E</sup>
EC <sub>50</sub>	7.41	-	-

Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-E) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.2.1.2. ABTS metod

Primenom ABTS testa dobijeni su rezultati koji pokazuju da je antioksidativna aktivnost lisičarke dozno zavisna – što je veća koncentracija, viša je i antioksidativna aktivnost (Grafik 8). Međutim, 50% aktivnosti nije dobijeno primenom ovog testa u testiranom opsegu koncentracija. Pored toga, dekokt gljive bio je slabiji u odnosu na komercijalni antioksidans, koji je korišćen kao pozitivna kontrola u ovom testu. Drugi autori objavili su da je lisičarka veoma potentan izvor antioksidanasa, zahvaljujući komponentama kao što su polifenoli i β-karoten (Dimitrijevic i sar., 2015; Kozarski i sar., 2015). Sposobnost etanolnog ekstrakta da neutrališe ABTS radikal testirali su Dimitrijevic i sar. (2015) i utvrdili EC<sub>50</sub> vrednost od 14 mg/ml. U ovoj studiji, EC<sub>50</sub> iznosila je oko 12 mg/ml. Zbog samog načina ekstrakcije, odnosno dekokta gljive, manje je dobijeno nepolarnih jedinjenja, kao što su ergosterol i β-karoten, a koji bi mogli da izvrše neutralizaciju slobodnih radikala, pa je rezultat antioksidativne aktivnosti dobijene ovim testom smatran umerenim.



Grafik 8. Antioksidativna aktivnost dekokta *C. cibarius* ispitivana neutralizacijom ABTS radikala.

AA – askorbinska kiselina.

### 5.2.1.3. Sposobnost redukcije jona gvožđa (FRAP)

Sposobnost dekokta gljive da donira elektrone može se izraziti preko testa redukcione sposobnosti. U prisustvu antioksidanasa,  $\text{Fe}^{3+}$  (feri) redukuje se u formu  $\text{Fe}^{2+}$  (fero), što se može pratiti formiranjem plavog obojenog jedinjenja na 700 nm; veća apsorbanacija ukazuje na jaču redukcionu sposobnost (Öztürk i sar., 2007). Sposobnost dekokta gljive i kontrole (askorbinska kiselina i BHT) da redukuju  $\text{Fe}^{3+}$  u  $\text{Fe}^{2+}$  pri različitim koncentracijama prikazana je u Tabeli 11.

Dekokt gljive pokazao je različite redukcionne sposobnosti i generalno, redukcionni kapacitet rastao je sa porastom koncentracije, ali jedino pri koncentraciji od 10 mg/ml bio je značajno veći od ostalih testiranih koncentracija. Vreli vodeni ekstrakti gljiva, *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea* i *Boletus edulis* 0,83, 0,86 i 1,15 pri koncentraciji od 5 mg/ml, redom Tsai i sar. (2007b). Takođe pri koncentraciji od 5 mg/ml, *P. citrinopileatus* pokazala je redukcionu sposobnost od 1,10 (Lo, 2005), što je u poređenju sa dobijenom apsorbancom u ovoj studiji dvaput jača aktivnost pri upola slabijoj testiranoj koncentraciji. Očigledno, u poređenju sa drugim jestivim gljivama, dekokt lisičarke ima slabiju redukcionu sposobnost.

Tabela 11. Antioksidativna aktivnost dekokta *C. cibarius* ispitivana metodom redukcione sposobnosti.

Koncentracija (mg/ml)	<i>C. cibarius</i>
0,625	0,031 ± 0,010 <sup>A</sup>
1,25	0,040 ± 0,000 <sup>A</sup>
2,5	0,102 ± 0,021 <sup>A</sup>
5	0,280 ± 0,000 <sup>A</sup>
10	0,534 ± 0,022 <sup>B</sup>
<b>Pozitivne kontrole*</b>	
<b>Butil hidroksianizol (BHA)</b>	2,506 ± 0,054 <sup>C</sup>
<b>Askorbinska kiselina</b>	2,380 ± 0,197 <sup>C</sup>

Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-C) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

\*Vrednosti apsorbanci za pozitivne kontrole merene su pri koncentraciji od 0,50 mg/ml.

#### 5.2.1.4. Sposobnost redukcije jona bakra (CUPRAC)

CUPRAC test koristi bakar (II) – neokuproin (Cu (II)-Nc) reagens kao hromogeno oksidirajuće sredstvo. Temelji se na praćenju stvaranja stabilnog kompleksa između neokuproina i bakra (I) merenjem apsorbance na 450 nm (Öztürk i sar., 2007). CUPRAC test dekokta gljive urađen je i upoređen sa pozitivnim kontrolama prikazanim u Tabeli 12.

Testirajući antioksidativnu aktivnost lisičarke ovom metodom, utvrđeno je da jedino pri koncentraciji od 10 mg/ml ova gljiva pokazuje antioksidativnu aktivnost. Međutim, vredno je istaći da je antioksidativni potencijal izmeren ovom metodom, a pri koncentraciji od 10 mg/ml bio samo 25% slabiji od  $\alpha$ -tokoferola.

Trenutno, CUPRAC test nije toliko zastupljen među istraživačima koji testiraju antioksidativni potencijal supstrata, te je malo podataka dosad objavljeno o mogućnosti gljiva da redukuju kupri jone, a posebno su retki podaci o kapacitetu vrelog vodenog ekstrakta i dekokta (Abdullah i sar., 2012; Abdullah i sar., 2016). U studiji Abdullah i sar. (2012), minimalna i maksimalna apsorbance za 14 kulinarskih-medicinskih gljiva, pri koncentraciji od 10 mg/ml, iznosile su između  $1,739 \pm 0,222$  do  $2,778 \pm 0,015$ , što je znatno viši potencijal od onog dobijenog u ovoj studiji.

Tabela 12. Antioksidativna aktivnost dekokta *C. cibarius* ispitivana pomoću CUPRAC testa.

Koncentracija (mg/ml)	<i>C. cibarius</i>	Butil hidroksitoluen (BHT)	$\alpha$ -tokoferol
0,1	0 ± 0 <sup>a,A</sup>	0,90 ± 0,1 <sup>b,A</sup>	0,44 ± 0,04 <sup>c,A</sup>
1	0 ± 0 <sup>a,A</sup>	1,54 ± 0,13 <sup>b,B</sup>	0,69 ± 0,01 <sup>c,B</sup>
2,5	0 ± 0 <sup>a,A</sup>	2,52 ± 0,02 <sup>b,C</sup>	1,11 ± 0,01 <sup>c,C</sup>
5	0 ± 0 <sup>a,A</sup>	3,33 ± 0,1 <sup>b,D</sup>	1,48 ± 0,08 <sup>c,D</sup>
10	1,545 ± 0,2 <sup>a,B</sup>	4,08 ± 0,04 <sup>b,E</sup>	2,06 ± 0,04 <sup>c,E</sup>

Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-E) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).



### 5.2.1.5. Ispitivanje antioksidativnih svojstava ekstrakata konjugen dienskom metodom

Rezultati dobijeni primenom konjugen dienske metode prikazani su u Tabeli 13. Konjugen dienska metoda bazirana je na sposobnosti supstance da uspori oksidaciju konjugovanih diena, koji se formiraju samo od polinezasićenih masnih kiselina. Pri koncentracijama od 5 i 10 mg/ml, dekoti gljive pokazali su slabu antioksidativnu aktivnost, dok pri nižim koncentracijama taj efekat uopšte nije bio uočen. Uobičajeni komercijalni antioksidansi, askorbinska kiselina i  $\alpha$ -tokoferol pokazali su jak antioksidativni efekat u svim testiranim koncentracijama. Vreli vodeni ekstrakt šumskih jestivih gljiva, kao što je *B. edulis* pokazao je snažnu aktivnost (85,7%) pri 5 mg/ml (Tsai i sar., 2007b). Pri identičnoj koncentraciji, *H. marmoreus* pokazala je umerenu aktivnost (38,6%) (Lee i sar., 2007b). Kod metode usporavanja oksidacije konjugovanih diena, dekoti lisičarke nije postigao očekivani efekat.

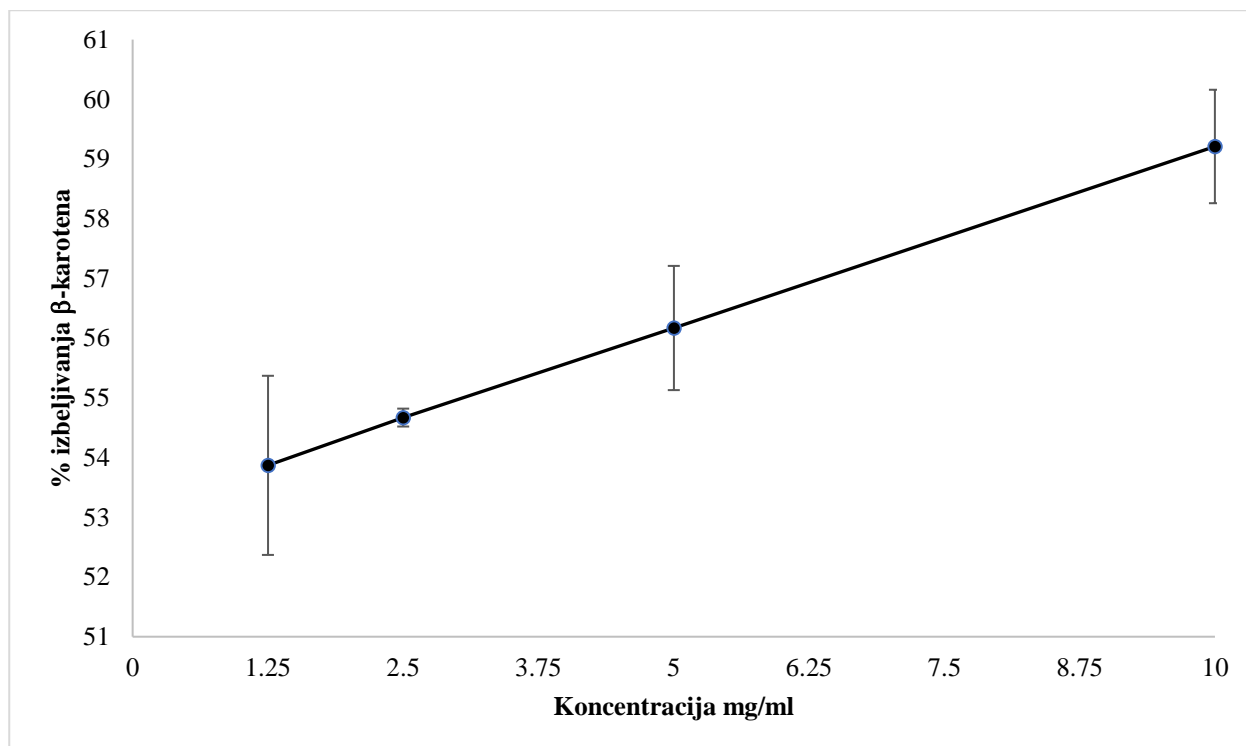
Tabela 13. Antioksidativna aktivnost dekoka *C. cibarius* ispitivana konjugen dienskom metodom.

Koncentracija (mg/ml)	<i>C. cibarius</i>	Askorbinska kiselina	$\alpha$ -tokoferol
0,1	0 $\pm$ 0 <sup>a,A</sup>	78,33 $\pm$ 0,91 <sup>b,A</sup>	82,77 $\pm$ 0,75 <sup>c,A</sup>
1	0 $\pm$ 0 <sup>a,A</sup>	79,50 $\pm$ 0,75 <sup>b,A</sup>	82,88 $\pm$ 0,06 <sup>c,A</sup>
2,5	0 $\pm$ 0 <sup>a,A</sup>	79,60 $\pm$ 0,9 <sup>b,A</sup>	81,53 $\pm$ 0,11 <sup>c,A,B</sup>
5	11,75 $\pm$ 1,98 <sup>a,B</sup>	80,84 $\pm$ 0,72 <sup>b,A,B</sup>	80,94 $\pm$ 0,06 <sup>b,B</sup>
10	22,36 $\pm$ 1,34 <sup>a,C</sup>	82,73 $\pm$ 0,8 <sup>b,B</sup>	82,36 $\pm$ 1,11 <sup>b,A</sup>

Vrednosti su date kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija (N = 3). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-C) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.2.1.6. Metoda izbeljivanja $\beta$ -karotena

$\beta$ -karoten linoleinski sistem baziran je na gubitku žute boje  $\beta$ -karotena tokom njegove reakcije sa radikalima formiranim oksidacijom linoleinske kiseline u emulziji. Procenat izbeljivanja  $\beta$ -karotena može biti usporen u prisustvu antioksidanasa (Kulisic, Radonic, Katalinic, & Milos, 2004). Kao što se može videti sa Grafika 9, dekoti lisičarke pokazao je umerenu do dobru antioksidativnu aktivnost (pri najvećoj testiranoj koncentraciji). Ovaj rezultat posledica je prisustva fenola,  $\alpha$ -tokoferola i  $\beta$ -karotena u samoj gljivi. Barros i sar. (2008c) utvrdili su EC<sub>50</sub> vrednost za metanolni ekstrakt *C. cibarius* u vrednosti 8,40 mg/ml, dok je vrednost dobijena u ovoj studiji bila niža (bolja antioksidativna vrednost) i iznosila 6,18 mg/ml.



Grafik 9. Antioksidativna aktivnost dekokta *C. cibarius* ispitivana metodom izbeljivanja  $\beta$ -karotena.

### 5.2.2. Antimikrobni efekat dekokta *C. cibarius* *in vitro*

Antimikrobne karakteristike dekokta lisičarke (*Cantharellus cibarius*) ispitivane su na odabranim bakterijama dobro poznatim patogenim vrstama (Tabela 14). Dekokt gljive pokazao je antibakterijsku aktivnost prema *Yersinia enterocolitica* (MIC - 10 mg/ml) i manju aktivnost prema *Listeria monocytogenes*, pri najvećoj testiranoj koncentraciji (MIC - 20 mg/ml). Što se tiče baktericidne aktivnosti, dekokti su pokazali ovaj efekat jedino pri najvećim testiranim koncentracijama (20 mg/ml) u odnosu na *L. monocytogenes* i *Y. enterocolitica*. Fungistatsko i fungicidno delovanje dekokta lisičarke prema *Candida albicans* bilo je intenzivnije, izraženo kroz istu vrednost MIC/MFC (10 mg/ml). Kosanic i sar. (2013) utvrdili su da su acetonski i metanolni ekstrakti lisičarke bili aktivni protiv *S. aureus* (MIC - 5 i 10 mg/ml, redom), *E. coli* (MIC - 10 mg/ml za oba ekstrakta), i *C. albicans* (MIC - 5 i 10 mg/ml, redom). Takođe, Kozarski i sar. (2015) su objavili da su antimikrobni efekti metanolnih ekstrakata lisičarke, određeni isto mikrodilucionim metodom, bili aktivni protiv *B. cereus* (MIC – 0,3125 mg/ml), *L. monocytogenes* (MIC – 0,625 mg/ml), *S. aureus* (MIC – 1,25 mg/ml), *E. coli* O157:H7 (MIC -10 mg/ml) i *Y. enterocolitica* (MIC - 20 mg/ml). Gljive su poznate po značajnom sadržaju antimikrobnih jedinjenja. Jači antimikrobni efekti gljiva mogu se javiti i zbog antimikrobnog mehanizma fenola, kao na primer hidroksilacijom fenolnog prstena (Kurćubić i sar., 2014). Kao što je nekolicina autora objavila, antimikrobni efekat gljiva iste vrste može da varira u zavisnosti od porekla gljive, rastvarača, i bakterijskog soja (Alves i sar., 2012).

Tabela 14. Antibakterijska/antifungicidna sposobnost dekokta *C. cibarius*, izražena kao MIC (mg/ml) i MBC/MFC (mg/ml), određena pomoću mikrodilucionog metoda.

Bakterijski soj	Izvor		Koncentracija (mg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	MIC	>20
		MBC	>20
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	MIC	>20
		MBC	>20
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 19111	MIC	20 <sup>A,*</sup>
		MBC	20 <sup>A</sup>
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028	MIC	>20
		MBC	>20
<i>Escherichia coli (0157:H7)</i>	ATCC 35150	MIC	>20
		MBC	>20
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 27729	MIC	10 <sup>B</sup>
		MBC	20 <sup>A</sup>
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	MIC	10 <sup>B</sup>
		MFC	10 <sup>B</sup>
<i>Pichia fermentans</i>	ATCC 28789	MIC	>20
		MFC	>20

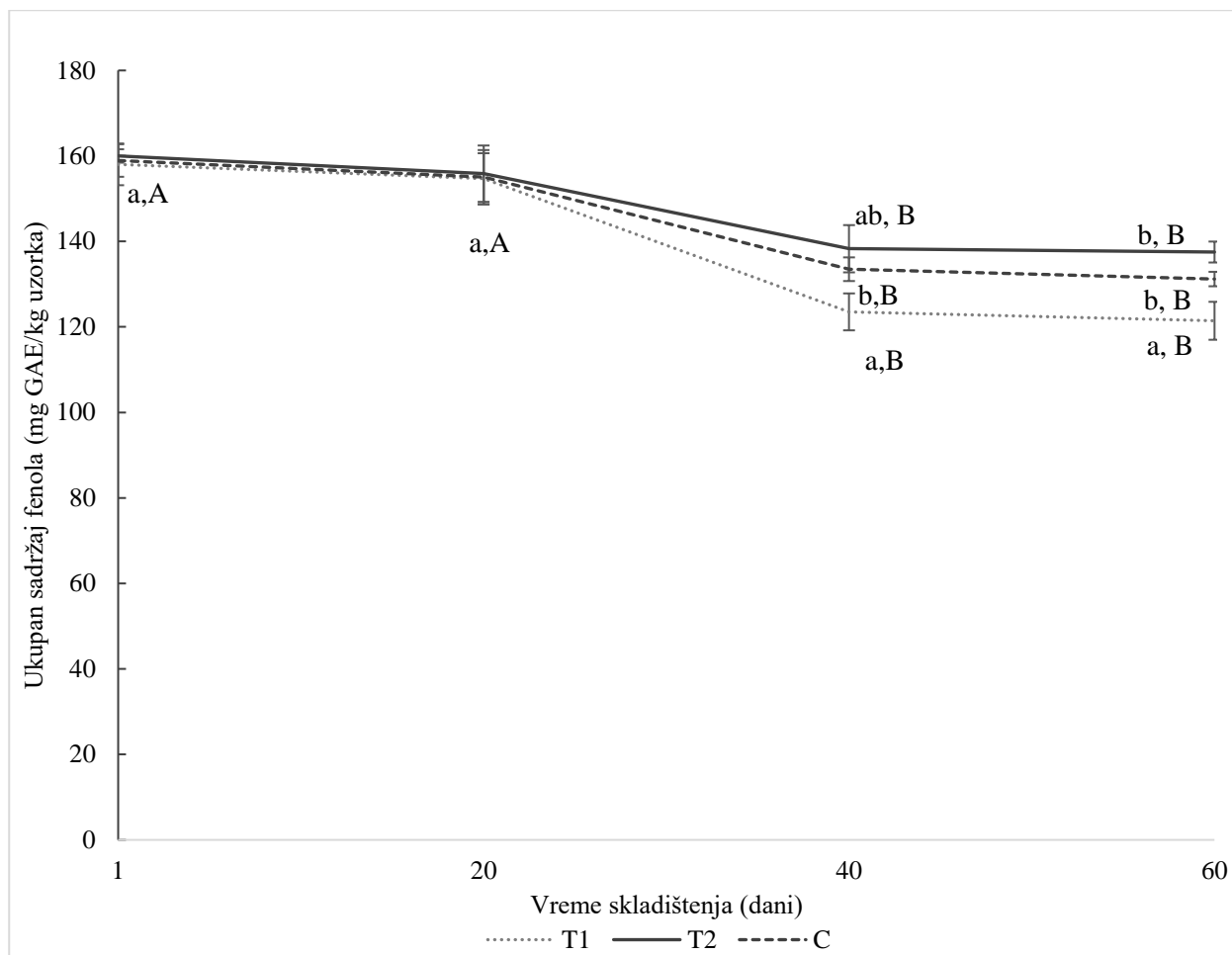
Standardna devijacija nije prikazana jer nije bilo razlike između merenja.

\*Unutar iste kolone, srednje vrednosti praćene različitim slovima bile su značajno različite ( $P < 0,05$ ).

- nije postignuto

### 5.2.3. Ukupan sadržaj fenolnih komponenti

Ukupan sadržaj fenola (mg GAE/kg uzorka) prikazan je na Grafiku 10. Može se primetiti da je sadržaj fenolnih komponenti bio sličan kod svih varijanti proizvedenih frankfurtera, sa nešto višim vrednostima kod tretmana sa većim sadržajem dodate gljive. Ovi rezultati potvrđuju nespecifičnost metode po Folin-Ciocalteu, jer je evidentno da određena količina fenola reaguje sa ugljenim hidratima, aminima, organskim kiselinama i vitaminom C, gube se i vrlo verovatno pokazuju manju vrednost (Singleton i sar., 1999). S druge strane, Palacios i sar. (2011) prikazali su da lisičarka sadrži velike količine kafeinske kiseline i katehina, tako da ova činjenica može doprineti razumevanju antioksidativnog potencijala ove gljive jer su ove komponente dominantnije u odnosu na druge fenolne komponente.



Grafik 10. Sadržaj ukupnih fenola u frankfurterima tokom skladištenja.

<sup>1</sup> Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup> Vrednosti sa različitim malim slovom (a-b) u istoj koloni (za različite tretmane) značajno se razlikuju ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-B) na istoj liniji grafika (za isti tretman u različito vreme skladištenja) razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

#### 5.2.4. Antioksidativne karakteristike frankfurtera sa dodatkom *Cantharellus cibarius*

##### 5.2.4.1. Antioksidativna aktivnost frankfurtera tokom skladištenja merena sposobnošću hvatanja ABTS radikala

Kao što je prikazano u Tabeli 15, dodatak dekokta lisičarke pozitivno je uticao na sposobnost neutralizacije ABTS radikala kod tretmana sa višom koncentracijom gljive, sa pokazanom statističkom značajnošću tokom perioda skladištenja od 40 dana, dok između T1 i C nije bilo značajne razlike. Značajna razlika između T2 i C bila je prisutna odmah nakon proizvodnje kobasica i održala se tokom 40 dana skladištenja. Istovremeni porast u sposobnosti hvatanja DPPH radikala uočen je u istraživanju Barros i sar. (2011a) prilikom testiranja goveđih pljeskavica sa dodatkom ekstrakta vrganja. Međutim, od četrdesetog do šezdesetog dana varijante sa dodatkom lisičarke pokazale su značajno slabije sposobnosti neutralizacije slobodnih radikala u odnosu na kontrolni uzorak. Pik antioksidativne aktivnosti dobijen je nakon 20 dana skladištenja, dok je u sledeće tri nedelje, procenat neutralizacije ABTS radikala slabio.

Ovaj test pokazuje da su antioksidativna jedinjenja prisutna u lisičarki bila stabilna tokom perioda od nekoliko nedelja, da bi kasnije izgubila tu svoju sposobnost verovatno usled komplikovanih interakcija koje se odvijaju u složenom sistemu kao što je frankfurter. Sličan trend, sa nešto boljim rezultatima dobijen je u slučaju dodavanja ekstrakta *Lentinus edodes* prilikom dodavanja u frankfurtere (Pil-Nam i sar., 2015).

Tabela 15. Neutralizacija ABTS radikala (%) tokom skladištenja frankfurtera.

Parametar	Vreme skladištenja (dani)	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>
ABTS (%)	1	23,57±0,42 <sup>a,A</sup>	55,84±0,35 <sup>b,A</sup>	22,29±0,32 <sup>a,A</sup>
	20	35,98±0,46 <sup>a,B</sup>	43,02±0,37 <sup>b,B</sup>	37,07±0,61 <sup>a,B</sup>
	40	21,08±0,38 <sup>a,A</sup>	19,54±0,26 <sup>a,C</sup>	32,69±1,34 <sup>b,C</sup>
	60	25,19±0,24 <sup>a,A</sup>	26,01±0,87 <sup>a,D</sup>	42,81±0,30 <sup>b,D</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-b) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-D) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

#### 5.2.4.2. Sadržaj malondialdehida (TBARS test)

Rezultati oksidacije lipida u frankfurterima TBARS metodom prikazani su u Tabeli 16. Vrednosti dobijene u ovoj studiji ( $\leq 0,71$  mg MDA/kg), za svaki pojedinačni tretman tokom skladištenja, bile su ispod vrednosti koja je pokazatelj inicijalnog stepena užeglosti ( $\geq 1,0$ ) (Ockerman, 1985). Dobijeni rezultati bili su u skladu sa literaturnim podacima dobijenim za slične proizvode od mesa (Choi i Sapers, 1994). Generalno, dodatak lisičarke imao je značajan uticaj ( $P < 0,05$ ) na smanjenje TBARS vrednosti u frankfurterima. Najverovatnije, to je posledica antioksidativnog potencijala lisičarke; jer su Palacios i sar. (2011) utvrdili da *C. cibarius* sadrži velike količine kafeinske kiseline i katehina, te ovo može biti glavni razlog za smanjenje TBARS vrednosti u kobasicama sa dodatim gljivama.

Tokom skladištenja, prisutan je bio trend rasta, a zatim pada TBARS vrednosti kod svih varijanti proizvedenih frankfurtera. To je svojevrsan paradoks koji se javio kao posledica interakcije između malondialdehida i ugljenih hidrata, nitrita i amino-kiselina unutar samih frankfurtera, tokom perioda čuvanja (Janero, 1990). Međutim, jasno se može videti u prikazu rezultata da je prilikom svakog ispitivanja, količina proizvoda sekundarne oksidacije lipida bila uvek niža kod tretmana sa dodatom gljivom, a u pojedinim slučajevima i višestruko niža, u poređenju sa kontrolnim uzorkom.

Tabela 16. TBARS vrednosti frankfurtera tokom skladištenja, izražena kao mg malondialdehida/kg uzorka.

Vreme skladištenja (dani)	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>
1	0,31±0,02 <sup>a,A</sup>	0,34±0,04 <sup>a,A</sup>	0,56±0,02 <sup>b,A</sup>
10	0,32±0,01 <sup>a,A</sup>	0,45±0,01 <sup>b,B</sup>	0,71±0,02 <sup>c,B</sup>
20	0,17±0 <sup>a,B,C</sup>	0,46±0,03 <sup>b,B</sup>	0,59±0,02 <sup>c,A</sup>
30	0,21±0,02 <sup>a,B</sup>	0,17±0,01 <sup>a,C</sup>	0,63±0,01 <sup>b,A,B</sup>
40	0,10±0,01 <sup>a,C,D</sup>	0,15±0,01 <sup>a,C,D</sup>	0,60±0,05 <sup>b,A,B</sup>
50	0,08±0,01 <sup>a,D</sup>	0,08±0,01 <sup>a,D</sup>	0,37±0,01 <sup>b,C</sup>
60	0,04±0,01 <sup>a,D</sup>	0,07±0,01 <sup>b,D</sup>	0,16±0,01 <sup>c,D</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-D) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.2.5. Osnovni hemijski sastav, instrumentalno merenje boje i promena pH vrednosti

Rezultati osnovnog hemijskog sastava frankfurtera sa dodatom gljivom bili su u skladu sa drugim objavljenim rezultatima za isti proizvod (Tabela 17) (McGough i sar., 2012; Pil-Nam i sar., 2015).

Tabela 17. Osnovni hemijski sastav frankfurtera (dan 1).

Parametar	T1	T2	C
Vlaga	56,63±1,06 <sup>a</sup>	55,03±0,81 <sup>b</sup>	57,66±1,22 <sup>a</sup>
Ukupni proteini	12,32±0,46 <sup>a</sup>	12,38±0,6 <sup>a</sup>	10,91±0,17 <sup>b</sup>
Masti	25,75±0,13 <sup>a</sup>	25,85±0,27 <sup>a</sup>	29,31±1,21 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup> Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-b) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

Kao jedna od prvih impresija potrošača o proizvodu i njegovom kvalitetu jeste sama boja tog proizvoda (Cachaldora i sar., 2013). Parametri boje koji su ispitivani u frankfurterima jesu svetloća ( $L^*$ ), udeo crvene boje ( $a^*$ ) i udeo žute boje ( $b^*$ ) i prikazani su u Tabeli 18. U frankfurterima sa dodatom lisičarkom došlo je do manjeg pada, ali statistički značajnog ( $P < 0,05$ ) u vrednostima za  $L^*$ , odnosno svetloću u poređenju sa kontrolom, prvi dan nakon proizvodnje. T1 i T2 imali su veće vrednosti udela žute boje ( $b^*$ ) u odnosu na C. Pad udela svetloće i rast u delu žute boje verovatno utiče na pokrivanje uobičajene boje frankfurtera zahvaljujući dodavanju gljive, koja ima prirodno zlatno-žutu boju. Slične rezultate za svetloću i udeo žute boje prijavili su Pil-Nam i sar. (2015), koji su dodavali šitake u frankfurtere. Tretmani T1 i T2 bili su generalno "crveniji" u odnosu na C. Razmatrajući  $\Delta E$  vrednost, definisanu preko  $L^* a^* b^*$  koordinatnog sistema boja, a koja može biti detektovana ljudskim okom jedino u slučaju kada je veća od 3 (Fernández-López et al., 2019), ustanovljeno je da su odmah nakon proizvodnje obe varijante sa dodatom gljivom imale manju vrednost od 3.

Tokom perioda hladnog skladištenja, svi tretmani su imali povišene vrednosti udela crvene boje i pad u svetloći nakon šezdeset dana. Što se tiče udela žute boje, desio se pad tokom čuvanja, ali nije bio značajan između prvog i šezdesetog dana. Sličan rezultat u udelu žute boje otkrili su Fernández-López i sar. (2019). Tokom skladištenja, što se tiče  $\Delta E$ , obe varijante pokazale su veće vrednosti od 3, što govori da se uobičajena boja frankfurtera sa dodatim gljivama ne održava prilikom čuvanja, odnosno menja se u pravcu boje koja dominira u samoj gljivi.

Tabela 18. CIELAB koordinate boje ( $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$ ), ukupna razlika u promeni boje ( $\Delta E$ ) u odnosu na kontrolni uzorak i pH vrednosti tokom skladištenja frankfurtera.

Parametar	Vreme skladištenja (dani)	T1	T2	C
CIE $L^*$	1	75,03±1,71 <sup>a,A</sup>	72,11±2,08 <sup>b,A</sup>	75,63±1,88 <sup>c,A</sup>
	20	75,01±1,46 <sup>a,A</sup>	70,22±1,93 <sup>a,B</sup>	75,29±5,39 <sup>b,A,B</sup>
	40	73,01±1,98 <sup>a,B</sup>	69,34±1,72 <sup>b,C</sup>	75,25±1,42 <sup>c,A</sup>
	60	64,59±4,06 <sup>a,C</sup>	59,7±3,68 <sup>b,D</sup>	74,73±1,39 <sup>c,B</sup>
CIE $a^*$	1	7,49±0,92 <sup>a,A</sup>	8,90±0,91 <sup>b,A</sup>	7,45±0,82 <sup>a,A</sup>
	20	8,09±0,73 <sup>a,B</sup>	9,65±0,85 <sup>b,B</sup>	8,50±0,76 <sup>c,B</sup>
	40	9,10±0,87 <sup>a,C</sup>	10,43±0,90 <sup>b,C</sup>	9,43±1,02 <sup>c,C</sup>
	60	9,76±0,76 <sup>a,D</sup>	11,10±1,19 <sup>a,D</sup>	9,98±0,82 <sup>a,D</sup>
CIE $b^*$	1	6,42±0,93 <sup>a,A</sup>	8,27±1,01 <sup>b,A,C</sup>	4,14±0,71 <sup>c,A</sup>
	20	5,48±0,78 <sup>a,B</sup>	8,38±0,94 <sup>b,A</sup>	3,84±0,61 <sup>c,B</sup>
	40	6,32±0,89 <sup>a,A</sup>	8,08±1,04 <sup>b,C</sup>	3,32±0,55 <sup>c,C</sup>
	60	7,17±1,05 <sup>a,C</sup>	9,63±0,93 <sup>b,B</sup>	4,63±0,83 <sup>c,D</sup>
$\Delta E$	1	2,35±0,96 <sup>a,A</sup>	2,95±0,09 <sup>b,A</sup>	-
	20	1,80±0,12 <sup>a,B</sup>	6,90±0,66 <sup>b,B</sup>	-
	40	3,75±0,11 <sup>a,C</sup>	7,65±0,47 <sup>b,C</sup>	-
	60	10,45±0,59 <sup>a,D</sup>	15,47±0,83 <sup>b,D</sup>	-
pH	1	6,16±0,01 <sup>a,A</sup>	6,11±0,01 <sup>b,A</sup>	6,17±0,02 <sup>a,A,B</sup>
	20	6,15±0,01 <sup>a,A,B</sup>	6,11±0,01 <sup>b,A</sup>	6,19±0,02 <sup>c,A</sup>
	40	6,10±0,04 <sup>a,A,B</sup>	6,09±0,02 <sup>a,A</sup>	6,18±0,05 <sup>b,A,B</sup>
	60	6,07±0,03 <sup>a,B</sup>	6,05±0,02 <sup>a,A</sup>	6,11±0,06 <sup>a,B</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3 uzorka od svake grupe proizvoda x 5 tačaka unutrašnjeg preseka). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-D) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

pH vrednosti kobasica sa dodatim gljivama bile su takođe u okviru uobičajenih vrednosti za ovu vrstu proizvoda od mesa (Bloukas i Paneras, 1993a). Šezdeseti dan skladištenja, desio se blagi pad pH vrednosti u odnosu na prvi dan nakon proizvodnje, ali on je bio statistički značajan samo kod T1. Pad pH vrednosti tokom skladištenja posledica je stvaranja organskih kiselina iz ugljenih hidrata, koje proizvode bakterije mlečne kiseline (Wójciak i sar., 2014b). Gotovo identični rezultati o padu pH vrednosti tokom perioda skladištenja dobili su Ranucci i sar. (2018).

### **5.2.6. Instrumentalno merenje teksture primenom analize teksturalnog profila (TPA) i “Warner-Bratzler Shear Force” testa (WBSF)**

Teksturalni profil kobasica prikazan je u Tabeli 19. Prvi dan nakon proizvodnje, nije bilo statistički značajne razlike ( $P > 0,05$ ) u čvrstoći, elastičnosti, kohezivnosti i žvakljivosti između kontrolne grupe i frankfurtera sa dodatkom lisičarkom. Pored toga, statistički značajna razlika nije pronađena za parametre elastičnosti i kohezivnosti između T1, T2 i C prilikom svakog ispitivanja koje je vršeno tokom skladištenja. U pogledu čvrstoće i žvakljivosti, kobasice sa dodatkom gljivom posedovale su više vrednosti.

Vreme skladištenja nije značajno uticalo na čvrstoću, elastičnost i žvakljivost u sklopu svake pojedinačne varijante (tretmana) frankfurtera između prvog i šezdesetog dana skladištenja, izuzev kontrolne grupe šezdeseti dan, a za parametar žvakljivosti. Gotovo identičan trend prijavili su Pil-Nam i sar. (2015), naime, čvrstoća i žvakljivost bile su slične između prvog i šezdesetog dana, nakon dodavanja *L. edodes* u frankfurtere. S druge strane, kohezivnost za sva tri tretmana pokazala je manji, ali statistički značajniji ( $P < 0,05$ ) rast tokom skladištenja. Vreme skladištenja nije imalo prevelikog uticaja na teksturalne parametre ako poredimo prvi dan nakon proizvodnje i poslednji dan skladištenja kobasica, što pokazuje dobre emulgujuće osobine korišćenih sirovina prilikom proizvodnje, a ponajviše mesnih proteina i nemesnih dodatih u vidu dekokta gljiva, kao i dobre stabilnosti samog proizvoda tokom čuvanja u hladnjači.

WBSF test, odnosno parametar čvrstoće dobijen ovom metodom potvrdio je da su frankfurteri sa dodatkom gljivom imali veću čvrstoću u odnosu na kontrolni uzorak, koji nije sadržao gljivu. Razlozi za ovakvo stanje u sistemu frankfurtera već su objašnjeni, a može se dodati da je potreban veći rad, odnosno neophodan je veći napon smicanja da nož preseče kobasicu kojoj je dodat dekokt gljive, nego kobasicu koja je pravljen bez dodataka. Razlog za to treba tražiti u stabilnijem matriksu, odnosno boljom gel strukturom dobijenom nakon toplotne obrade, a zbog sadržaja prirodnih proteina u samim gljivama koji najviše doprinose većoj čvrstoći, što je i evidentno iz rezultata za osnovni hemijski sastav kobasica, koji pokazuje veći sadržaj proteina u finalnim uzorcima kod kobasica sa dodatkom gljivom, a u odnosu na kontrolni uzorak.



Tabela 19. Parametri teksturalnog profila frankfurtera tokom skladištenja.

Analiza teksturalnog profila	Vreme skladištenja (dani)	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>
Čvrstoća (N)	1	1,99±0,28 <sup>a,A,B</sup>	2,00±0,21 <sup>a,A,C</sup>	1,98±0,32 <sup>a,A</sup>
	10	2,29±0,19 <sup>a,A</sup>	2,55±0,27 <sup>a,B</sup>	1,82±0,34 <sup>b,A</sup>
	20	2,02±0,14 <sup>a,A,B</sup>	2,09±0,16 <sup>a,A,C</sup>	1,73±0,12 <sup>b,A</sup>
	30	1,90±0,23 <sup>a,A,B</sup>	2,10±0,22 <sup>a,A,C</sup>	1,68±0,12 <sup>b,A</sup>
	40	1,82±0,12 <sup>a,B</sup>	2,36±0,16 <sup>b,A,B</sup>	1,62±0,11 <sup>c,A</sup>
	50	1,88±0,12 <sup>ab,A,B</sup>	2,16±0,35 <sup>a,A,B,C</sup>	1,78±0,26 <sup>b,A</sup>
	60	1,95±0,14 <sup>a,A,B</sup>	1,99±0,23 <sup>a,C</sup>	1,60±0,20 <sup>b,A</sup>
Elastičnost	1	0,96±0,03	0,95±0,03	0,96±0,02
	10	0,94±0,04	0,93±0,03	0,95±0,03
	20	0,96±0,02	0,94±0,03	0,95±0,03
	30	0,95±0,01	0,96±0,02	0,95±0,02
	40	0,96±0,02	0,94±0,02	0,94±0,02
	50	0,95±0,03	0,96±0,01	0,96±0,02
	60	0,95±0,02	0,93±0,05	1,08±0,31
Kohezivnost	1	0,84±0,02 <sup>A</sup>	0,83±0,02 <sup>A</sup>	0,83±0,02 <sup>A</sup>
	10	0,84±0,01 <sup>A</sup>	0,83±0,01 <sup>A</sup>	0,84±0,01 <sup>A</sup>
	20	0,84±0,02 <sup>A</sup>	0,84±0,01 <sup>A,B</sup>	0,83±0,03 <sup>A</sup>
	30	0,85±0,01 <sup>A,B</sup>	0,84±0,01 <sup>A,B</sup>	0,82±0,05 <sup>A,B</sup>
	40	0,85±0,01 <sup>A,B</sup>	0,84±0,02 <sup>A,B</sup>	0,84±0,02 <sup>A,B</sup>
	50	0,86±0,02 <sup>B,C</sup>	0,85±0,01 <sup>B,C</sup>	0,86±0,03 <sup>B</sup>
	60	0,87±0,03 <sup>B,C</sup>	0,87±0,03 <sup>B,C</sup>	0,86±0,02 <sup>B</sup>
Žvakljivost (N)	1	1,63±0,20 <sup>a,A</sup>	1,68±0,24 <sup>a,A</sup>	1,62±0,25 <sup>a,A</sup>
	10	1,83±0,17 <sup>ab,A</sup>	2,07±0,26 <sup>a,B,C</sup>	1,59±0,23 <sup>b,A</sup>
	20	1,72±0,17 <sup>a,A</sup>	1,78±0,15 <sup>a,A,B</sup>	1,61±0,21 <sup>a,A</sup>
	30	1,81±0,19 <sup>a,A</sup>	1,96±0,19 <sup>a,A,B,C</sup>	1,32±0,15 <sup>b,A</sup>
	40	1,65±0,07 <sup>a,A</sup>	2,13±0,19 <sup>b,C</sup>	1,25±0,07 <sup>c,B</sup>
	50	1,66±0,16 <sup>a,A</sup>	1,89±0,16 <sup>b,A,B,C</sup>	1,05±0,15 <sup>c,B</sup>
	60	1,66±0,12 <sup>a,A</sup>	1,74±0,12 <sup>a,A,B</sup>	1,09±0,17 <sup>b,B</sup>
Čvrstoća "WBSF" (N)	1	8,36±1,54 <sup>a,A</sup>	8,36±1,32 <sup>a,A,B</sup>	7,04±1,32 <sup>a,A</sup>
	10	5,94±1,76 <sup>a,B</sup>	7,48±1,10 <sup>a,B</sup>	5,94±0,88 <sup>a,A,B,C</sup>
	20	6,82±1,65 <sup>a,A,B</sup>	8,14±0,96 <sup>b,B</sup>	6,60±1,10 <sup>b,A,B</sup>
	30	7,26±1,28 <sup>a,A,B</sup>	8,14±0,66 <sup>a,B</sup>	5,50±0,66 <sup>b,B,C,D</sup>
	40	7,26±1,63 <sup>a,A,B</sup>	10,12±1,21 <sup>b,A</sup>	6,82±0,66 <sup>b,A</sup>
	50	5,94±1,71 <sup>a,B</sup>	7,92±0,66 <sup>b,B</sup>	4,18±0,66 <sup>c,D</sup>
	60	6,82±1,81 <sup>a,A,B</sup>	7,92±0,88 <sup>a,B</sup>	5,06±0,66 <sup>b,C,D</sup>

<sup>1</sup> Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup> Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 8 specimenata x 3 uzorka iz svake grupe). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-D) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.2.7. Mikrobiološki profil

Kao što je već objašnjeno, ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (TPC) smatra se indikatorom kvara proizvoda od mesa tokom hladnog skladištenja. TPC u frankfurterima proizvedenim sa dodatim dekoktom lisičarke bio je značajnije manji ( $P < 0,05$ ) nego u frankfurterima koji su poslužili kao kontrolni uzorak prvi dan nakon proizvodnje (Tabela 20). Naime, već je dokazano da pojedine komponente prisutne u gljivama poseduju antimikrobna jedinjenja, a pre svih drugih katehini, galna

kiselina i rutin (Oyetayo i Ariyo, 2013). Kod svih varijanti ispitivanih kobasica zabeležen je rast ukupnog broja aerobnih bakterija tokom skladištenja, a slične rezultate objavili su Tahmouzi i sar. (2012). Veći rast TPC primećen je za kontrolu, dok su manje vrednosti primećene za tretmane sa dodatkom gljivom, osim četrdesetog dana skladištenja. Na kraju čuvanja kobasica (60. dan), TPC (T1, T2) u ovoj studiji bilo je značajno manji nego u istom proizvodu od mesa kome je dodavana gljiva *L. edodes*, a rezultati na kraju skladištenja predstavljali su vrednosti dobijene trideseti dan od momenta proizvodnje (Pil-Nam i sar., 2015). Kod sve tri varijante frankfurtera, nije potvrđeno prisustvo *Salmonella* spp., *E. coli*, *L. monocytogenes*, koagulaza pozitivnih stafilokoka i sulfitoredujućih klostridija.

Tabela 20. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (TPC) u frankfurterima tokom skladištenja.

Mikroorganizmi	Vreme skladištenja (dani)	T1	T2	C
	(TPC)	1	1,00 ± 0,00 <sup>a,A</sup>	1,26 ± 0,24 <sup>a,A</sup>
(log <sub>10</sub> cfu/g)	20	4,80 ± 0,17 <sup>a,B</sup>	4,36 ± 0,10 <sup>b,B</sup>	5,76 ± 0,06 <sup>c,B</sup>
	40	4,88 ± 0,03 <sup>a,B</sup>	5,50 ± 0,03 <sup>b,C</sup>	4,41 ± 0,11 <sup>c,C</sup>
	60	5,05 ± 0,02 <sup>a,B</sup>	4,70 ± 0,10 <sup>b,B</sup>	5,93 ± 0,08 <sup>c,B</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-C) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.2.8. Procena senzorske prihvatljivosti proizvoda

Senzorske karakteristike frankfurtera tokom skladištenja prikazane su u Tabeli 21. Najviše ocene za miris dobijene su za T2, sa izuzetkom četrdesetog dana od momenta proizvodnje, kada su bolje ocene dobijene za C. Uprkos tome, nije pronađena statistički značajna razlika ( $P > 0,05$ ) između C i T1, T2 u pogledu mirisa. Što se tiče ukusa, najviše ocene date su tretmanima sa dodatim gljivama tokom prvih trideset dana ispitivanja, dok su u preostalim mesec dana hladnog skladištenja više ocene date kontrolnom uzorku. Bitno je istaći da nije bilo statistički značajne razlike u pogledu ukusa između tretmana sa i bez dodate gljive ( $P > 0,05$ ). Potrošači su u pojedinim vremenskim presecima davali bolje ocene za miris i ukus frankfurtera obogaćenih lisičarkom zbog činjenice da gljive poseduju pojedine komponente koje su prepoznate kao pojačivači ukusa (lentionin i mononatrijum-glutaminat). Analize ukupnog kvaliteta pokazale su sličan trend ocenjivanja dobijen za ukus kobasica, a takođe nije bilo statistički značajne razlike između C i T1, T2 u pogledu ukupne prihvatljivosti ( $P > 0,05$ ). Što se tiče efekta skladištenja, nije utvrđena statistički značajna razlika između prvog i šezdesetog dana od momenta proizvodnje kobasica, osim u pogledu ukupnog kvaliteta za varijantu T2.

Özvural i Vural (2011) su pokazali da je dodatak brašna od koštica grožđa rezultirao nižim ocenama ukusa. Pored toga, Deda i sar. (2007) prikazali su da je dodatak sosa od paradajza uzrokovao

nepoželjne promene ukusa. U poređenju sa prethodno pomenutim studijama, dodatak lisičarke nije uzrokovao negativne efekte senzorskih karakteristika, naprotiv, došlo je do povećanja u ocenama mirisa, ukusa i ukupne prihvatljivosti tokom prvog meseca skladištenja.

Tabela 21. Senzorske karakteristike frankfurtera tokom skladištenja.

Parametri senzorskog kvaliteta	Vreme skladištenja (dani)	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>
Miris	1	6,1±2,1 <sup>A,B</sup>	6,3±2,2 <sup>A</sup>	5,6±2,4 <sup>A</sup>
	10	6,8±1,8 <sup>A</sup>	7,0±1,7 <sup>A</sup>	6,5±2,0 <sup>A,B</sup>
	20	7,1±1,8 <sup>A</sup>	7,3±1,8 <sup>A</sup>	6,7±1,9 <sup>A,B</sup>
	30	6,6±2,1 <sup>A,B</sup>	6,8±2,1 <sup>A</sup>	6,8±1,8 <sup>B</sup>
	40	6,3±2,1 <sup>A,B</sup>	6,7±2,0 <sup>A</sup>	7,0±2,1 <sup>B</sup>
	50	6,0±1,9 <sup>A,B</sup>	6,4±1,8 <sup>A</sup>	6,3±1,9 <sup>A,B</sup>
	60	5,6±1,1 <sup>B</sup>	6,4±1,2 <sup>A</sup>	6,1±1,5 <sup>A,B</sup>
Ukus	1	6,5±2,1 <sup>A,C,D</sup>	7,1±2,1 <sup>A,B</sup>	6,4±2,2 <sup>A</sup>
	10	7,6±1,6 <sup>B</sup>	7,8±1,5 <sup>A</sup>	7,5±1,6 <sup>B,C</sup>
	20	7,7±1,5 <sup>B</sup>	7,8±1,5 <sup>A</sup>	7,5±1,8 <sup>B,C</sup>
	30	7,4±1,8 <sup>A,B</sup>	6,9±2,3 <sup>A,B,C</sup>	7,3±1,4 <sup>B,C</sup>
	40	7,0±1,9 <sup>A,B,C</sup>	7,1±1,9 <sup>A,B</sup>	7,6±1,8 <sup>C</sup>
	50	6,2±1,9 <sup>C,D</sup>	6,5±1,7 <sup>B,C</sup>	6,6±2,0 <sup>A,B</sup>
	60	5,9±1,2 <sup>D</sup>	5,9±1,4 <sup>C</sup>	6,5±1,4 <sup>A</sup>
Ukupna prihvatljivost	1	6,5±2,1 <sup>A,C</sup>	6,9±2,1 <sup>A</sup>	6,2±2,1 <sup>A</sup>
	10	7,4±1,5 <sup>A,B</sup>	7,8±1,5 <sup>A</sup>	7,4±1,5 <sup>B</sup>
	20	7,6±1,4 <sup>B</sup>	7,7±1,5 <sup>A</sup>	7,4±1,7 <sup>B</sup>
	30	7,4±1,8 <sup>A,B</sup>	7,4±2,2 <sup>A</sup>	7,3±1,4 <sup>B</sup>
	40	6,9±2,0 <sup>A,B,C</sup>	7,0±2,0 <sup>A</sup>	7,4±2,0 <sup>B</sup>
	50	6,5±2,0 <sup>A,C</sup>	6,8±1,6 <sup>A,B</sup>	6,9±2,0 <sup>A,B</sup>
	60	6,0±1,1 <sup>C</sup>	5,9±1,3 <sup>B</sup>	6,5±1,5 <sup>A,B</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 50 ocenjivača po svakom danu ispitivanja). Nije bilo statistički značajne razlike između tretmana ( $P > 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-D) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.2.9. Zaključak

- Lisičarka (*Cantharellus cibarius*) je pokazala antioksidativni potencijal *in vitro*, te je upotrebljena prilikom proizvodnje kobasica u tipu frankfurtera, a u obliku dekokta sa ukupnim koncentracijama od 0,75% i 1,50% u zamesu, a u svrhu smanjenja oksidacije lipida tokom skladištenja.
- Lisičarka je pokazala antibakterijsko dejstvo u odnosu na *Yersinia enterocolitica* (MIC-10 mg/ml) i *Listeria monocytogenes* (MIC-20 mg/ml) *in vitro*, te baktericidni efekat prema *L. monocytogenes* i *Y. enterocolitica* (20 mg/ml, redom). Fungistatsko i fungicidno dejstvo dekokta lisičarke na *Candida albicans* izraženo je kroz vrednosti MIC/MFC (10 mg/ml), a

dobijeni rezultati ukazuju na potencijalnu upotrebu ove gljive u cilju očuvanja bezbednosti i prevencije kvara prehrambenih proizvoda.

- Nije utvrđen značajan uticaj gljive na pH vrednost frankfurtera, dok je osnovni hemijski sastav pretrpeo samo blaže izmene, i to u pravcu povećanja sadržaja ukupnih proteina, te blagog smanjenja sadržaja masti u kobasicama sa dodatom gljivom.
- Dodatak lisičarke uticao je na smanjenje produkata sekundarne oksidacije lipida u odnosu na kontrolni uzorak, merenih TBARS testom, što može biti interesantno u budućim istraživanjima da se kao zamena jednog dela i kompletnih antioksidanasa veštačkog porekla dodaju prirodni antioksidansi, a u svrhu smanjenja štetnih efekata komercijalnih antioksidanasa na ljudsko zdravlje.
- Dodatak lisičarke smanjio je ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija u odnosu na kontrolnu grupu frankfurtera tokom skladištenja, učinivši kobasice mikrobiološki ispravnim i produživši rok trajanja na dva meseca.
- Negativne promene u teksturi frankfurtera obogaćenih dekoktom gljive nisu bile uočene. Naprotiv, tekstura kobasica sa dodatom gljivom bila je čvršća, što doprinosi stabilnosti finalnog proizvoda tokom skladištenja.
- Frankfurteri sa dodatim dekoktom gljiva promenili su boju finalnog proizvoda tokom skladištenja.
- Dodatak gljive u kobasice nije imao negativnog uticaja na senzorske karakteristike tokom skladištenja, naprotiv, uzorci su ocenjeni višim ocenama u odnosu na kontrolni uzorak u toku prvih mesec dana hladnog skladištenja.

### ***5.3. Craterellus cornucopioides - antioksidativni i antimikrobni potencijal i uticaj dodatka ove vrste gljive na kvalitet frankfurtera***

#### ***5.3.1. Antioksidativne karakteristike dekokta C. cornucopioides in vitro***

##### ***5.3.1.1. Sposobnost hvatanja slobodnih DPPH radikala***

DPPH metoda bazirana je na merenju sposobnosti neutralizacije antioksidansa pomoću hvatanja slobodnih DPPH radikala, i jedan je od najčešće korišćenih testova (Abdullah i sar., 2012). Svi dobijeni rezultati bili su zavisni od testirane koncentracije dekokta gljive (Tabela 22). U poređenju sa pozitivnom kontrolom (L-askorbinskom kiselinom), testirana gljiva u ovoj studiji imala je značajno nižu vrednost za svaku pojedinačnu koncentraciju.

Sposobnost hvatanja DPPH radikala može biti prikazana i kao EC<sub>50</sub>, vrednost koja pokazuje da je pri datoj koncentraciji neutralizovano 50% od ukupne količine DPPH radikala. EC<sub>50</sub> za crnu trubu iznosila je 8,65 mg/ml. Liu i sar. (2012) utvrdili su za vreli vodeni ekstrakt crne trube EC<sub>50</sub> vrednost

od 26,37 mg/ml, što je značajno slabija aktivnost nego ona dobijena u ovoj studiji (8,65 mg/ml), čak i za blaži način ekstrakcije, kao što je dekokt.

Puttaraju i sar. (2006) prikazali su u svojoj studiji da je  $EC_{50}$  za vrganj iznosio 1,30 mg/ml. Chirinang i Intarapichet (2009) objavili su da vreli vodeni ekstrakt gljive *Pleurotus ostreatus* ima umerenu antioksidativnu aktivnost ( $EC_{50} = 11,56$  mg/ml) kao i *P. sajor caju* ( $EC_{50} = 13,38$  mg/ml). U istraživanju Öztürk i sar. (2011) *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea* i *Boletus edulis* utvrđen je slabiji antioksidativni efekat ove tri gljive sa  $EC_{50}$  vrednostima 13,75, 26,98 i 15,78 mg/ml, redom. Generalno gledano, dekokt crne trube ispitivan DPPH metodom pokazao je umerenu sposobnost hvatanja radikala, odnosno antioksidativne aktivnosti.

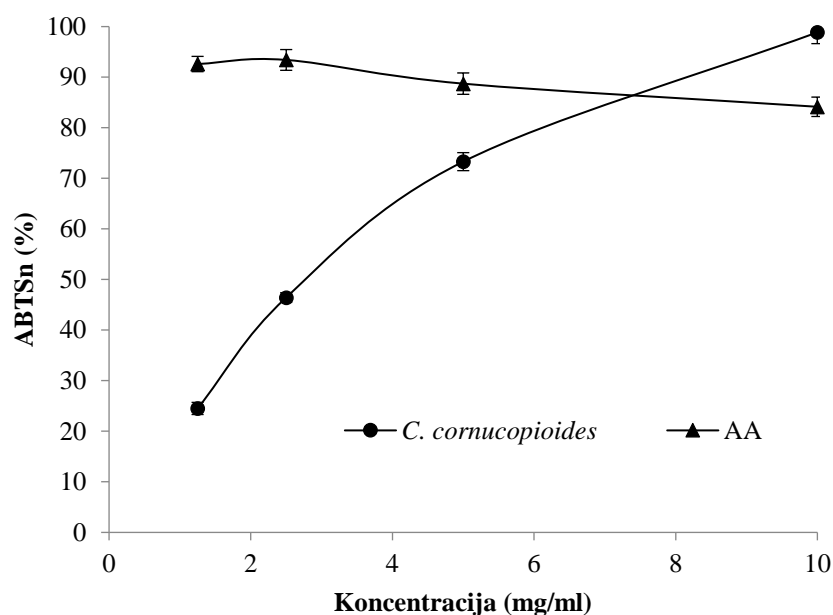
Tabela 22. Antioksidativne karakteristike dekokta *C. cornucopioides* merene DPPH testom

Koncentracija (mg/ml)	<i>C. cornucopioides</i>	askorbinska kiselina
<b>0,625</b>	5,36±4,38 <sup>b,A</sup>	81,33±1,11 <sup>c,A</sup>
<b>1,25</b>	16,48±3,85 <sup>ab,A,B</sup>	83,65±0,09 <sup>c,B</sup>
<b>2,5</b>	14,63±6,91 <sup>b,A</sup>	83,38±0,15 <sup>c,B</sup>
<b>5</b>	24,7±6,02 <sup>a,A,B</sup>	84,38±0,26 <sup>b,B</sup>
<b>10</b>	29,46±1,11 <sup>b,B</sup>	81,07±0,49 <sup>c,A</sup>
<b><math>EC_{50}</math> (mg/ml)</b>	8,65	-

Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3 uzorka od svake serije). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-B) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.3.1.2. ABTS metod

Primenom testa neutralizacije ABTS radikala, dekokt *C. cornucopioides* pokazao je gotovo 100% inhibiciju prilikom maksimalne testirane koncentracije (Grafik 11). Ovaj rezultat bio je značajno viši od rezultata dobijenog za askorbinsku kiselinu. Drugi autori ispitivali su antioksidativnu aktivnost ove gljive, ali najčešće primenom DPPH metode. Njihov rezultat imao je značajno višu  $EC_{50}$  vrednost (slabiju antioksidativnu aktivnost) (40,64 mg/ml u slučaju etanolnog ekstrakta i 26,37 mg/ml za vodeni ekstrakt) nego u ovoj studiji (2,61 mg/ml), ali odgovor DPPH testa je slabiji u poređenju sa ABTS metodom, što je evidentno i iz istraživanja Dimitrijevic i sar. (2015). Interesantno, ova studija potvrdila je značajnu količinu u vodi ekstrahovanih antioksidanasa, što je u potpunoj saglasnosti sa analizom dekokta crne trube.



Grafik 11. Antioksidativna aktivnost dekokta *C. cornucopioides* ispitivana neutralizacijom ABTS radikala.

AA – askorbinska kiselina.

### 5.3.1.3. Sposobnost redukcije jona gvožđa (FRAP)

Sposobnost redukcije jona gvožđa predstavlja metodu zasnovanu na reakciji transfera elektrona između antioksidansa i oksidansa, pri čemu dolazi do redukcije  $Fe^{3+}$  u  $Fe^{2+}$ . Pozitivna reakcija manifestuje se promenom boje rastvora, a što je vrednost apsorbance na 700 nm veća, to je jača redukciona sposobnost testirane supstance (Khaskheli i sar., 2015).

Redukciona sposobnost dekokta crne trube direktno je proporcionalna koncentraciji, pokazujući maksimalnu vrednost apsorbance pri koncentraciji od 10 mg/ml (0,89) (Tabela 23). U istraživanju Kol i sar. (2018), vodeni i metanolni ekstrakti crne trube imali su značajno niže vrednosti apsorbance pri koncentraciji od 10 mg/ml nego što je to slučaj u ovoj studiji. Iako je askorbinska kiselina pokazala veću aktivnost, rezultat dobijen ovim testom ne sme se zanemariti i pokazuje znatnu antioksidativnu efikasnost.

Tabela 23. Antioksidativna aktivnost dekokta *C. cornucopioides* ispitivana metodom redukcione sposobnosti

Koncentracija (mg/ml)	<i>C. cornucopioides</i>	askorbinska kiselina
0,625	0.03±0.02 <sup>a,A</sup>	1.51±0 <sup>b,A</sup>
1,25	0.07±0 <sup>a,B</sup>	2±0 <sup>b,B</sup>
2,5	0.21±0.02 <sup>a,C</sup>	2±0 <sup>b,B</sup>
5	0.47±0.02 <sup>a,D</sup>	2±0 <sup>b,B</sup>
10	0.89±0.01 <sup>a,E</sup>	2±0 <sup>b,B</sup>

Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3 uzorka od svake serije). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-b) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-E) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

#### 5.3.1.4. Sposobnost redukcije jona bakra (CUPRAC)

Ovaj metod razvijen je za merenje redukcionih sposobnosti antioksidanasa tako što se izaziva konverzija kupri ( $\text{Cu}^{2+}$ ) u kupro ( $\text{Cu}^+$ ) jon. Neokuproin ligand koristi se da bi se olakšalo merenje apsorbance.  $\text{Cu}^{2+}$  - neokuproin kompleks može biti redukovan antioksidansima do  $\text{Cu}^+$  - neokuproina, sa maksimumom apsorpcije na 450 nm (Apak i sar., 2004).

Ova metoda korišćena je kako bi se testirala antioksidativna aktivnost materijala približna fiziološkoj pH vrednosti, a rezultati su prikazani preko apsorbance. Kao što je evidentno iz Tabele 24, sposobnost dekokta gljive da redukuje jon bakra zavisila je od koncentracije, a maksimalna testirana koncentracija pokazala je najjaču redukciju jona bakra,  $0,81 \pm 0,06$ . Apsorbance testiranih koncentracija dekokta bile su značajno niže od apsorbanci komercijalnih antioksidanasa korišćenih kao pozitivne kontrole, pri identičnim koncentracijama. Abdullah i sar. (2012), testirajući 12 jestivih medicinskih gljiva istom metodom, dobili su veće vrednosti za apsorbanu nego što je to slučaj kod dekokta crne trube. Međutim, treba istaći da su isti istraživači koristili vreli vodeni ekstrakt, formu koja ekstrahuje veću količinu antioksidativnih jedinjenja.

Tabela 24. Antioksidativna aktivnost dekokta *C. cornucopioides* ispitivana pomoću CUPRAC testa.

Koncentracija (mg/ml)	<i>C. cornucopioides</i>	BHT	$\alpha$ -tokoferol
0,625	$0,14 \pm 0,01^{a,A}$	$0,90 \pm 0,10^{b,A}$	$0,44 \pm 0,04^{c,A}$
1,25	$0,19 \pm 0,04^{a,A}$	$1,54 \pm 0,13^{b,B}$	$0,69 \pm 0,1^{c,B}$
2,5	$0,33 \pm 0,03^{a,B}$	$2,52 \pm 0,02^{b,C}$	$1,11 \pm 0,01^{c,C}$
5	$0,52 \pm 0,03^{a,C}$	$3,33 \pm 0,10^{b,D}$	$1,48 \pm 0,08^{c,D}$
10	$0,81 \pm 0,06^{a,D}$	$4,08 \pm 0,04^{b,E}$	$2,06 \pm 0,04^{c,E}$

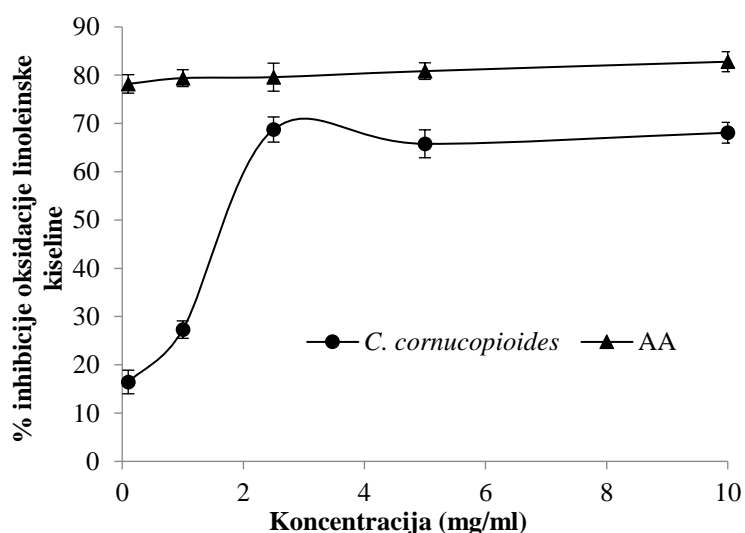
Vrednosti su date kao srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija (N = 3 uzorka od svake serije). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-E) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

#### 5.3.1.5. Ispitivanje antioksidativnih svojstava ekstrakata konjugen dienskom metodom

Sposobnost dekokta gljive da inhibira oksidaciju linoleinske kiseline (Grafik 12) bila je zavisna od koncentracije, a pogotovo u slučaju nižih koncentracija. Sličan trend primećen je i za koncentracije dekokta gljive od preko 2,5 mg/ml. Najjača aktivnost dobijena je za najviše testirane koncentracije - % inhibicije lipidne oksidacije iznosio je gotovo 70%. Palacios i sar. (2011) takođe su objavili isti % inhibicije oksidacije lipida kod metanolnog ekstrakta *C. cornucopioides*. Međutim, iako su isti istraživači detektovali veliki broj antioksidativnih jedinjenja prisutnih u *C. cornucopioides*, taj efekat se ne može pripisati jednostavnom zbiru svih jedinjenja, već je u najvećoj meri posledica prisustva velike količine miricetina. Ovi rezultati potvrđuju da iako blag tretman kao što je dekokcija može generisati proizvod bogat antioksidativnim supstancama, što dalje implicira da *C. cornucopioides* ima značajan nivo polarnih fenolnih frakcija u svom sastavu.

Pri identičnoj koncentraciji, mereno istom metodom, Mau i sar. (2005) odredili su antioksidativnu aktivnost oko 60% za *Ganoderma tsugae* Murrill gljivu. Slične rezultate objavili su Lee i sar. (2007a) za gljivu *Pleurotus citrinopileatus*, pri istoj testiranoj koncentraciji. Značajno bolje rezultate antioksidativne aktivnosti utvrdili su Tsai i sar. (2007b) (66,3%, 83,0%, i 85,7% za *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, i *B. edulis*, redom) u poređenju sa dekoktom crne trube, a pri identičnoj testiranoj koncentraciji (5 mg/ml).

Konjugen dienska metoda bazirana je na sposobnosti supstance da uspori oksidaciju konjugovanih diena, koji mogu biti formirani jedino kod polinezasićenih masnih kiselina (Huang i sar., 2005). Pošto se u ovom testu koristi linoelinska kiselina koja samo delimično imitira biološki sistem i formira samo jednu formu konjugovanih diena, ovaj metod se obično koristi u kombinaciji više antioksidativnih testova, kako bi se dobila što objektivnija slika ispitivanog supstrata.



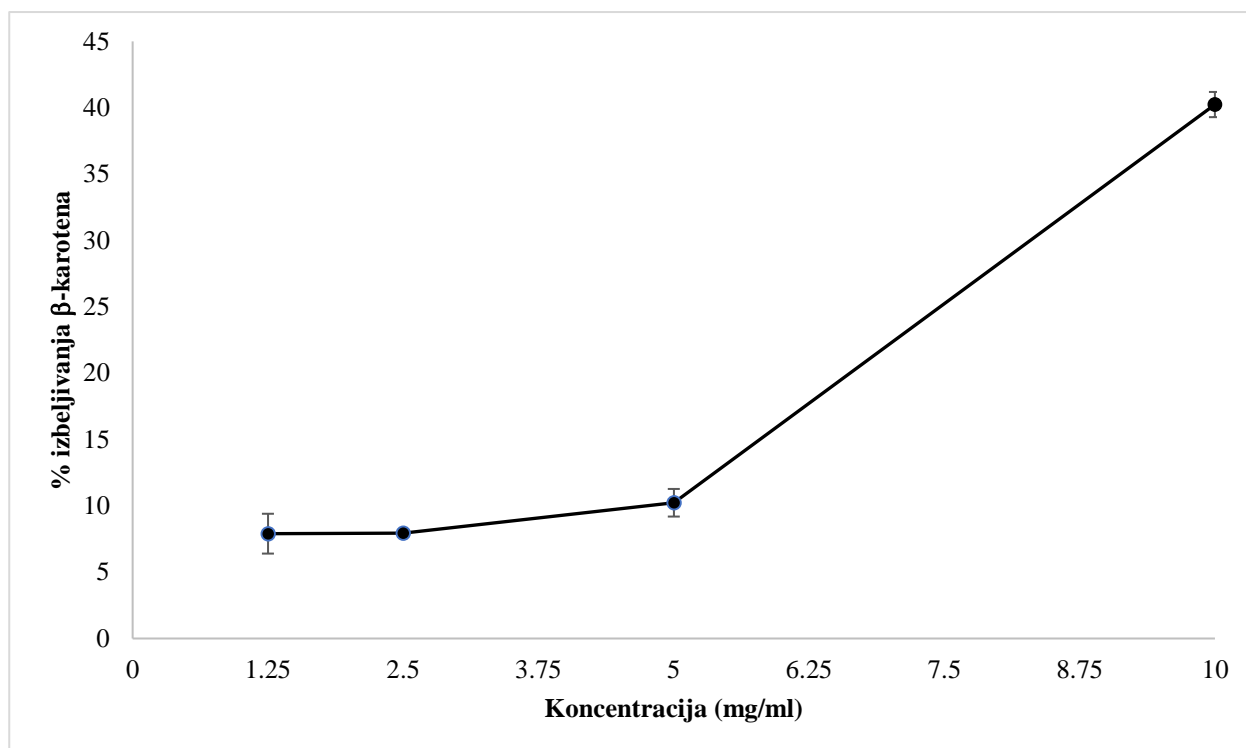
Grafik 12. Antioksidativna aktivnost dekokta *C. cornucopioides* ispitivana konjugen dienskom metodom.

### 5.3.1.6. Metoda izbeljivanja $\beta$ -karotena

Ova metoda zasnovana je na gubitku žute boje  $\beta$ -karotena tokom njegove reakcije sa radikalima formiranim oksidacijom linoleinske kiseline u emulziji. Procenat izbeljivanja  $\beta$ -karotena može biti usporen u prisustvu antioksidanasa (Kulisic i sar., 2004). Kao što je očigledno sa Grafika 13, antioksidativna aktivnost dekokta crne trube pri koncentraciji od 10 mg/ml bila je umerena, dok za manje koncentracije ta aktivnost je bila veoma slaba. Nema zvaničnih podataka u literaturi za testiranje crne trube metodom izbeljivanja  $\beta$ -karotena. S druge strane, Palacios i sar. (2011) objavili su rezultate u kojima je metanolni ekstrakt crne trube pokazao jaku aktivnost prema inhibiciji oksidacije linoleinske kiseline (70%). Isti autori potvrdili su da je ekstrakt crne trube bio najbogatiji



miricetinom, a pored toga i homogentisinskom kiselinom, što govori o najzastupljenijim fenolnim komponentama odgovornim za antioksidativnu aktivnost.



Grafik 13. Antioksidativna aktivnost dekokta *C. cornucopioides* ispitivana metodom izbeljivanja  $\beta$ -karotena.

### 5.3.2. Antimikrobni efekat dekokta *C. cornucopioides* in vitro

Ispitivanje antimikrobnog efekta dekokta *Craterellus cornucopioides* pokazalo je da je ovaj dekokt ispoljio efekat na većinu testiranih bakterija (Tabela 25). Pored inhibitorne aktivnosti (MIC - 10-20 mg/ml), sa izuzetkom *B. cereus* i *Salmonella* Typhimurium (MIC > 20 mg/ml), baktericidna aktivnost (MBC - 20 mg/ml) posmatranih Gram-pozitivnih bakterija takođe je potvrđena. Inhibicija rasta testiranih Gram-negativnih bakterija (MIC - 10-20 mg/ml) potvrđena je u kontaktu sa dekoktom *Craterellus cornucopioides*, dok je baktericidni potencijal utvrđen u slučaju *Y. enterocolitica*, *S. aureus* i *L. monocytogenes* (MBC - 20 mg/ml). Iako je antibakterijski efekat dekokta gljive potvrđen i na Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije, primetno je da su Gram-pozitivne bakterije osetljivije u prisustvu ovog dekokta. Ovi rezultati nisu u skladu sa prethodnim rezultatima koji se tiču antibakterijskog delovanja crne trube. Razlog toga mogao bi biti u različitim metodama ekstrakcije. Naime, Kosanic i sar. (2013) objavili su da acetonski ekstrakt crne trube inhibira rast bakterija pri nižim koncentracijama (MIC – 0,1-0,2 mg/ml), dok su Dimitrijevic i sar. (2015) utvrdili da su za inhibiciju potrebne više koncentracije etanolnog ekstrakta (MIC – 12,5-50,0 mg/ml) kao i za baktericidni efekat (MBC – 50,0 mg/ml), a u poređenju sa dekoktom. Nije dobijena statistički značajna razlika kada je u pitanju fungicidni efekat, pri svim testiranim koncentracijama, vrlo verovatno zbog veoma kompleksne strukture njihovog ćelijskog zida (Kosanic i sar., 2013).

Frankfurteri, odnosno hrana koja spada u RTE kategoriju, smatra se bezbednom za konzumiranje bez bilo kakvog prethodnog procesuiranja ili toplotnog tretmana. Međutim, koraci u naknadnoj obradi, u kojima je moguća unakrsna kontaminacija gotovom hranom u koju spadaju i frankfurteri, predstavljaju posebnu opasnost. Ipak, prerađeno meso spremno za konzumiranje, kao i slični proizvodi koji se čuvaju na temperaturama frižidera, su proizvodi kod kojih postoji velika verovatnoća da budu kontaminirani *L. monocytogenes*, patogenom bakterijom koja izaziva veoma tešku kliničku sliku, a koja može biti čak i fatalna (listerioza) (Zhu i sar., 2017).

U cilju prevazilaženja ovih rizika, dok se izbegava primena veštačkih aditiva koji često imaju štetne efekte, mogućnost korišćenja prirodnih antimikrobnih komponenti je u velikom porastu među istraživačima. U naporima da se očuva bezbednost gotovih jela, uključujući i frankfurtere, možda je upotreba dekokta *C. cornucopioides* kao integralne komponente finalnog proizvoda rešenje koje bi bilo praktično.

Tabela 25. Antibakterijska/antifungicidna sposobnost dekokta *C. cornucopioides*, izražena kao MIC (mg/ml) i MBC/MFC (mg/ml), određena pomoću mikrodilucionog metoda.

Mikrobiološki soj	Izvor		Koncentracija
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	MIC	20,0 <sup>a,1</sup>
		MBC	20,0 <sup>a</sup>
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 19111	MIC	10,0 <sup>a</sup>
		MBC	20,0 <sup>a</sup>
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	MIC	>20,0
		MBC	-
<i>E. coli</i> (O157:H7)	ATCC 35150	MIC	20,0 <sup>a</sup>
		MBC	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 27729	MIC	10,0 <sup>a</sup>
		MBC	20,0 <sup>a</sup>
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028	MIC	>20,0
		MBC	-
<i>Pichia fermentans</i>	ATCC 28789	MIC	>20,0
		MBC	-
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	MIC	>20,0
		MBC	-

Podaci su prikazani kao srednje vrednosti dobijene iz tri ponavljanja. Pošto nisu nađene razlike u ponavljanjima, nije bilo potrebe za prikazivanjem standardnih devijacija.

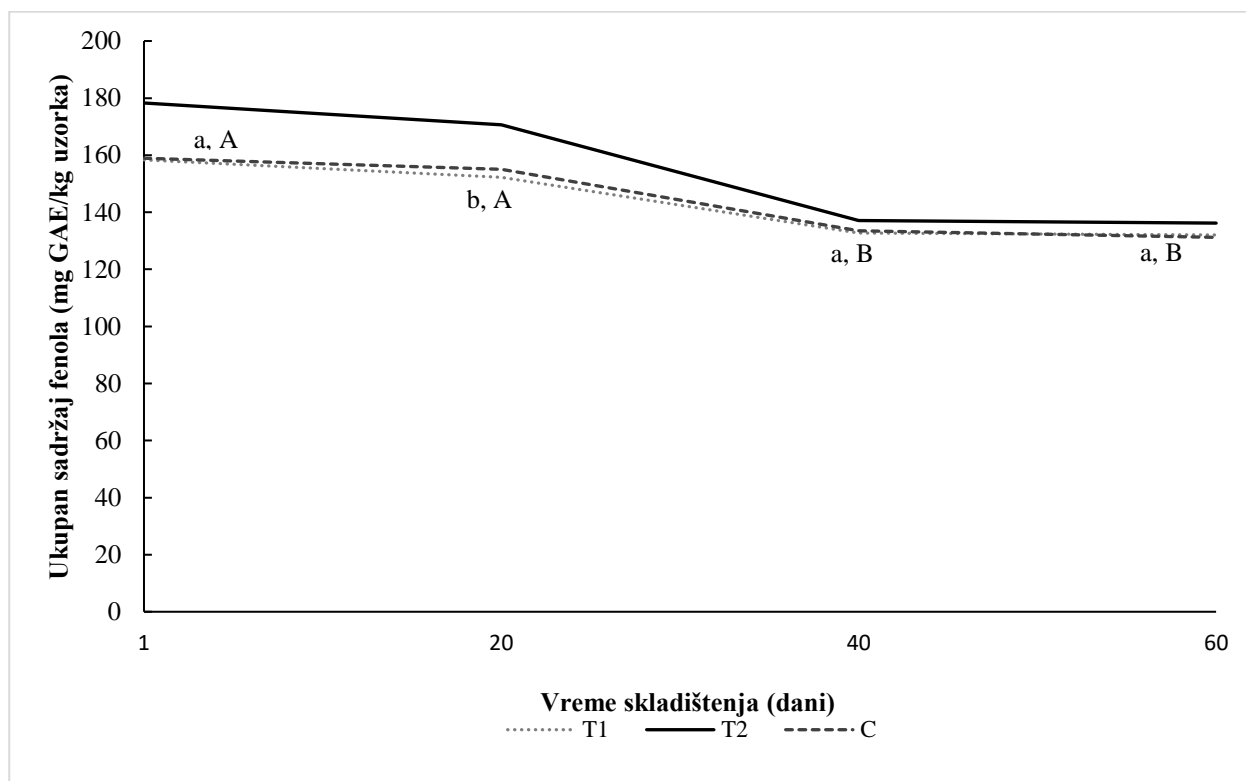
<sup>1</sup> U istom redu, vrednosti praćene različitim malim slovima značajno se razlikuju.

- nije postignut efekat.

### 5.3.3. Ukupan sadržaj fenolnih komponenti

Jedinjenja koja su najzaslužnija za antioksidativno dejstvo gljiva jesu fenoli (Elmastas i sar., 2007). Na Grafiku 14 može se videti da tretman T2 sadrži više ukupnih fenola u odnosu na T1 i C, dok je niža koncentracija gljive (T1) imala gotovo identične vrednosti ukupnih fenola kao i kontrolni uzorak.

Prethodna istraživanja pokazala su da je veza između ukupnih fenola i antioksidativne aktivnosti linearna. Faktor skladištenja značajno je uticao na sadržaj ukupnih fenola u kobasicama, što se jasno može videti sa Grafika 14, gde se uočava nagli pad između dvadesetog i četrdesetog dana. Pad ukupnih fenola tokom skladištenja potvrđen je i kod Jiménez-Zamora i sar. (2016) i može se povezati sa oksidacijom fenolnih komponenti.



Grafik 14. Sadržaj ukupnih fenola u frankfurterima tokom skladištenja.

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

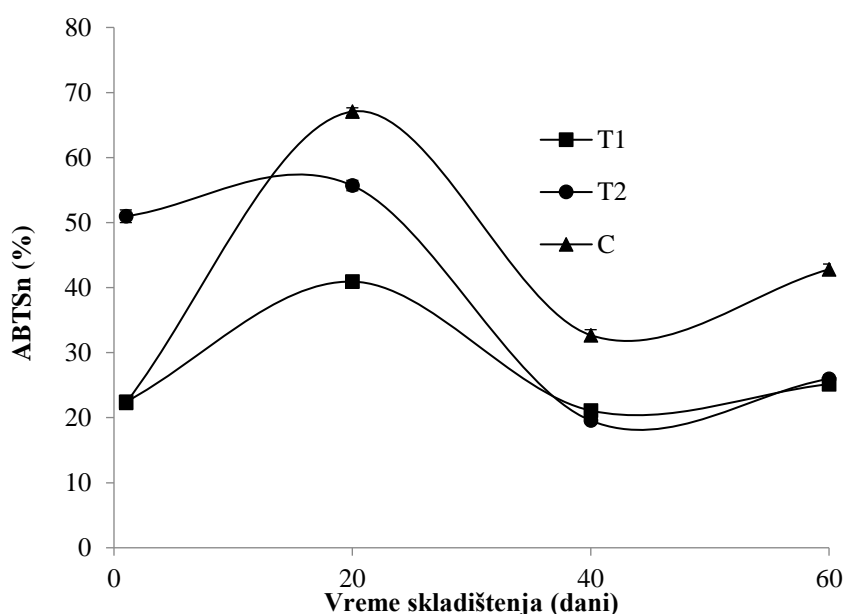
<sup>2</sup>Vrednosti sa različitim malim slovom (a-b) u istoj koloni (za različite tretmane) značajno se razlikuju ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-B) na istoj liniji grafika (za isti tretman u različito vreme skladištenja) razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

#### 5.3.4. Antioksidativne karakteristike frankfurtera sa dodatkom *Craterellus cornucopioides*

##### 5.3.4.1. Antioksidativna aktivnost frankfurtera tokom skladištenja merena sposobnošću hvatanja ABTS radikala

Prilikom dodavanja u frankfurtere dekokt *C. cornucopioides* promovise antioksidativno delovanje, a posebno kada je proizvodu dodata koncentracija od 1,5% (Grafik 15). Niža koncentracija dekokta imala je isti efekat kao i kontrolni uzorak. Ovaj pozitivni efekat održao se tokom dvadeset dana skladištenja za obe koncentracije dekokta, a zatim pokazao trend naglog opadanja do kraja čuvanja. Na kraju skladištenja, posle 60 dana, obe varijante sa dodatim gljivama imale su značajno manje sposobnosti za neutralizaciju ABTS radikala. Barros i sar. (2011a) takođe su prikazali umerenu antioksidativnu aktivnost prilikom dodavanja gljiva u proizvode od mesa. Obe varijante sa dodatom gljivom pokazale su antioksidativnu aktivnost tokom prve tri nedelje čuvanja. Ovo može biti

posledica tipa materijala korišćenog u ovoj studiji: gljive su dodate u formi dekokta koji se sastoji od tečnih i čvrstih delova, a testiran je dekokt zbog mnogih prednosti (lako, brzo i jednostavno se pravi i jeftin je) koji bi kasnije mogao da pronađe svoju primenu u industriji. Antioksidansi u tečnom delu reagovali su brzo sa ABTS radikalom, što je bilo evidentno prvog dana nakon proizvodnje. Antioksidansi prisutni u čvrstom delu dekokta sporije su bili oslobađani što je rezultiralo porastom neutralizacije ABTS radikala (do dvadesetog dana). Međutim, kasnije tokom skladištenja antioksidansi su delimično iscrpljeni, što je rezultiralo smanjenjem procenta neutralizacije ABTS radikala.



Grafik 15. Neutralizacija ABTS radikala (%) frankfurtera tokom skladištenja frankfurtera.

<sup>1</sup> Skraćenice su date u Tabeli 1.

#### 5.3.4.2. Sadržaj malondialdehida (TBARS test)

Oksidacija masti u frankfurterima testirana je određivanjem stepena TBARS vrednosti (mg malondialdehida/kg uzorka). Prvog dana nakon proizvodnje kobasica primećeno je više nego duplo smanjenje vrednosti malondialdehida kod T1 varijante, a u odnosu na kontrolni uzorak, dok je kod T2 ta vrednost bila i četverostruko niža od kontrolnog uzorka (Tabela 26). Relativno jak antioksidativni efekat *C. cornucopioides* uzrok je postojanja fenolnih jedinjenja sadržanih u samoj gljivi (galna kiselina, kvercetin, rutin, katehin, *p* – kumarinska kiselina) (Kosanić i sar., 2019). Što se tiče poređenja tretmana tokom različitih vremenskih preseka, potvrđene su značajno niže TBARS vrednosti kod varijanti sa dodatkom gljivom u odnosu na kontrolni uzorak, dok između samih tretmana koji sadrže *C. cornucopioides*, nije primećen trend, odnosno pravilnost koja bi mogla da objasni dobijene rezultate. Rezultati dobijeni u ovoj studiji bili su u skladu sa literaturnim podacima dobijenim za slične proizvode od mesa (Hwang i sar., 2015).

Tokom skladištenja nije bilo drastičnog povećanja TBARS vrednosti, a pred sam kraj skladištenja primetno je bilo i značajno opadanje. Ovaj pad različito su opisivali različiti istraživači. Naime, Jamora i Rhee (2002) utvrdili su da prilikom formiranja malondialdehida tokom skladištenja dolazi i do međumolekulskih reakcija (reakcija polimerizacije), kao i reakcija sa drugim konstituentima, a pre svega amino-kiselinama/proteinima koji uzrokuju nestajanje malondialdehida. Treba istaći da su sve vrednosti TBARS bile značajno ispod 1, granice koju je uspostavio Ockerman (1985), a koja se smatra granicom formiranja užeglosti kod proizvoda od mesa. Rezultati dobijeni u ovoj studiji u saglasnostima su sa rezultatima koje su objavili (Fernández-López i sar., 2019); Ranucci i sar. (2018).

Tabela 26. TBARS vrednosti frankfurtera tokom skladištenja, izražena kao mg malondialdehida/kg uzorka.

Parametar	Vreme skladištenja (dani)	T1	T2	C
MDA/kg	1	0,25±0,03 <sup>a,A</sup>	0,14±0,02 <sup>b,A,D</sup>	0,56±0,02 <sup>c,A</sup>
	10	0,26±0,02 <sup>a,A</sup>	0,31±0,02 <sup>a,B</sup>	0,71±0,02 <sup>c,B</sup>
	20	0,13±0,01 <sup>a,B</sup>	0,42±0,02 <sup>b,C</sup>	0,59±0,02 <sup>c,A,C</sup>
	30	0,14±0,01 <sup>a,B</sup>	0,17±0,03 <sup>a,A</sup>	0,63±0,01 <sup>b,B,C</sup>
	40	0,08±0,01 <sup>a,B,C</sup>	0,11±0,01 <sup>a,A,D,E</sup>	0,60±0,05 <sup>b,A,B,C</sup>
	50	0,08±0,01 <sup>a,B,C</sup>	0,09±0,02 <sup>a,D,E</sup>	0,37±0,01 <sup>b,D</sup>
	60	0,06±0,03 <sup>a,C</sup>	0,03±0,02 <sup>a,E</sup>	0,16±0,01 <sup>b,E</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-E) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.3.5. Osnovni hemijski sastav, instrumentalno merenje boje i promena pH vrednosti

Rezultati osnovnog hemijskog sastava frankfurtera predstavljeni su u Tabeli 27 i bili su u okviru uobičajenih vrednosti za ovu vrstu proizvoda od mesa (Bloukas i Paneras, 1993b). Povišen sadržaj ukupnih proteina uočen je u kobasicama obogaćenim gljivama, zato što *C. cornucopioides* u svom sastavu ima zavidnu količinu proteina, prema Barros i sar. (2008b)  $69,45 \pm 1,24$  g/100 g proteina, računato na suhu materiju.

Tabela 27. Osnovni hemijski sastav frankfurtera (dan 1).

Parametar	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>
Vlaga	58,57±0,60 <sup>a</sup>	55,7±0,70 <sup>b</sup>	57,67±1,22 <sup>a</sup>
Ukupni proteini	12,18±0,68 <sup>a</sup>	12,45±0,6 <sup>a</sup>	10,91±0,17 <sup>b</sup>
Mast	24,15±1,83 <sup>a</sup>	28,39±0,46 <sup>b</sup>	29,31±1,21 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-b) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

Što se tiče boje, prvi dan nakon proizvodnje frankfurtera uočena je značajna razlika između tretmana sa dodatkom gljivom i kontrolnog uzorka u pogledu svetloće i udela žute boje, a u pogledu crvene boje značajna razlika uočena je između T2 i C, dok dodatak gljive u nižoj koncentraciji nije značajno uticao (Tabela 28). U pogledu svetloće, prilikom svakog pojedinačnog testiranja uočena je statistički

značajna razlika između tretmana sa dodatom gljivom i kontrolnog uzorka. Dodatak gljive uzrokovao je pad u vrednostima svetloće, što je i razumljivo, jer je boja same gljive izrazito crna (komercijalni naziv joj je i crna/mrka truba) pa je i njeno dodavanje u većoj koncentraciji dovelo do još većeg pada svetloće. Što se tiče udela žute boje, značajno veće vrednosti dobijene su u frankfurterima sa dodatom gljivom nego u kontrolnom uzorku, tokom svakog vremenskog preseka u kom su vršene analize, dok je u pogledu crvene boje primećen trend smanjenja vrednosti T1 i T2 u odnosu na C. Udeo crvene boje takođe je pokazao manje vrednosti u kobasicama u koje je dodavana crna truba, sa izrazitijom razlikom nakon dvadesetog dana testiranja.

Ako se posmatra kako faktor vremena skladištenja utiče na pojedine varijante frankfurtera, nije uočen pravilan trend u opadanju ili porastu pojedinačnih vrednosti za svetloću, za udeo crvene i udeo žute boje, pa je izračunata  $\Delta E$  vrednost, vrednost iz  $L^* a^* b^*$  koordinatnog sistema boja, koja može biti detektovana ljudskim okom jedino u slučaju kada je vrednost veća od 3 (Fernández-López et al., 2019).  $\Delta E$  vrednost pokazala je da dodatak crne trube prilično menja boju frankfurtera, dostižući tokom skladištenja veoma visoke vrednosti za koncentraciju gljive od 1,5% (T2). Fernández-López i sar. (2019) takođe su utvrdili da dodatak proizvoda čija semenki (*Salvia hispanica* L.) menja boju frankfurtera tokom skladištenja ( $\Delta E > 3$ ).

Tabela 28. CIELAB koordinate boje ( $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$ ), ukupna razlika u promeni boje ( $\Delta E$ ) u odnosu na kontrolni uzorak i pH vrednosti tokom skladištenja frankfurtera.

Parametar	Vreme skladištenja (dani)	T1	T2	C
CIE $L^*$	1	64,31±2,46 <sup>a,A</sup>	55,53±2,08 <sup>b,A,B</sup>	75,63±1,88 <sup>c,A</sup>
	20	63,82±2,05 <sup>a,A</sup>	54,81±2,48 <sup>b,B</sup>	75,29±5,39 <sup>c,A,C</sup>
	40	64,34±2,22 <sup>a,A</sup>	56,25±2,2 <sup>b,A</sup>	76,28±1,42 <sup>c,B</sup>
	60	52,36±5,48 <sup>a,B</sup>	43,5±3,44 <sup>b,C</sup>	74,73±1,39 <sup>c,C</sup>
CIE $a^*$	1	7,31±0,76 <sup>a,A</sup>	7,83±0,83 <sup>b,A</sup>	7,46±0,82 <sup>a,A</sup>
	20	6,93±0,67 <sup>a,B</sup>	7,69±0,91 <sup>b,A</sup>	8,5±0,76 <sup>c,B</sup>
	40	8,02±0,72 <sup>a,C</sup>	8,84±0,66 <sup>b,B</sup>	9,43±1,02 <sup>c,C</sup>
	60	7,81±0,83 <sup>a,C,D</sup>	7,18±0,96 <sup>b,C</sup>	9,98±0,82 <sup>c,D</sup>
CIE $b^*$	1	6,26±1,02 <sup>a,A</sup>	7,41±1 <sup>b,A</sup>	4,14±0,71 <sup>c,A</sup>
	20	5,75±0,77 <sup>a,B</sup>	6,98±1,06 <sup>b,B</sup>	3,84±0,61 <sup>c,B</sup>
	40	5,08±0,78 <sup>a,C</sup>	6,8±1,27 <sup>b,B,C</sup>	3,32±0,55 <sup>c,C</sup>
	60	6,62±0,8 <sup>a,D</sup>	6,67±0,99 <sup>a,B,C</sup>	4,63±0,83 <sup>b,D</sup>
$\Delta E$	1	11,41±1,14 <sup>a,A</sup>	20,36±2,88 <sup>b,A</sup>	-
	20	11,66±1,11 <sup>a,A</sup>	20,73±2,35 <sup>b,A</sup>	-
	40	12,15±1,53 <sup>a,A</sup>	20,50 <sup>b,A</sup>	-
	60	22,55±2,34 <sup>a,B</sup>	31,42 <sup>b,B</sup>	-
pH	1	6,15±0,02 <sup>a,A</sup>	6,16±0,01 <sup>a,A</sup>	6,17±0,02 <sup>a,A</sup>
	20	6,15±0,02 <sup>a,A</sup>	6,18±0,01 <sup>b,A</sup>	6,19±0,02 <sup>b,A</sup>
	40	6,14±0,02 <sup>a,A</sup>	6,14±0,03 <sup>a,A,B</sup>	6,18±0,05 <sup>b,A</sup>
	60	6,04±0,06 <sup>a,b,B</sup>	6,11±0,02 <sup>b,B</sup>	6,11±0,06 <sup>b,B</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3 uzorka od svake grupe proizvoda x 5 tačaka unutrašnjeg preseka). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-E) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

Kao što je prikazano u Tabeli 28, vrednosti za pH kretale su se u opsegu 6,04 – 6,19 i bile su u okviru uobičajenih vrednosti za kobasice u tipu frankfurtera (Bloukas i Paneras, 1993a). Jedino je šezdesetog dana došlo do blažeg pada pH vrednosti u svakom od tretmana, a u poređenju sa prvim danom proizvodnje. Pad pH vrednosti tokom skladištenja javlja se kao posledica nakupljanja organskih kiselina iz ugljenih hidrata, a usled aktivnosti bakterija mlečne kiseline (Wójciak i sar., 2014a). Slične rezultate tokom skladištenja iste vrste proizvoda od mesa prijavili su Ranucci i sar. (2018).

### 5.3.6. Instrumentalno merenje teksture primenom analize teksturalnog profila (TPA) i “Warner-Bratzler Shear Force” testa (WBSF)

Nije bilo statistički značajne razlike u parametrima elastičnosti i kohezivnosti prilikom svakog pojedinačnog testiranja tokom skladištenja (Tabela 29). Dodatak *C. cornucopioides* u frankfurtere rezultovao je statistički većim vrednostima ( $P < 0,05$ ) čvrstoće i gumoznosti u varijantama T1 i T2, a u odnosu na C tokom svakog dana ispitivanja. Dobijeni rezultati su posledica dodavanja gljive, jer je određena količina proteina već prisutna u samoj gljivi. Inkorporacija nemesnih proteina u emulziju rezultuje čvršćom teksturom, zbog formiranja gušćeg proteinskog matriksa, rezistentnijeg na

kompresiju (Youssef i sar., 2011). U pogledu gumoznosti, dobijeni rezultati pokazuju da je više energije potrebno za procese žvakanja varijanti T1 i T2, u poređenju sa C. Ovi rezultati koreliraju sa porastom čvrstoće, jer je  $\text{Gumoznost} = \text{Čvrstoća} \times \text{Kohezivnost}$  (Bourne, 1982), a nije utvrđena statistički značajna razlika ( $P > 0,05$ ) za parametar kohezivnosti tokom skladištenja. Slične rezultate za gumoznost prijavili su Pil-Nam i sar. (2015). Tokom skladištenja, primećen je opadajući trend u vrednostima za parametre čvrstoće, gumoznosti i žvakljivosti, dok je elastičnost i kohezivnost ostala nepromenjena.



Tabela 29. Parametri teksturalnog profila frankfurtera tokom skladištenja.

Analiza teksturalnog profila	Vreme skladištenja (dani)	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>
Čvrstoća (N)	1	2,18±0,19 <sup>a,A</sup>	2,67±0,22 <sup>b,A</sup>	1,98±0,32 <sup>c,A</sup>
	10	2,19±0,14 <sup>-A,B</sup>	2,39±0,18 <sup>b,A,B</sup>	1,98±0,26 <sup>c,A,B</sup>
	20	2,10±0,14 <sup>a,A,B</sup>	2,45±0,27 <sup>b,A,B</sup>	1,91±0,28 <sup>c,A,B</sup>
	30	2,19±0,27 <sup>a,A,B</sup>	2,44±0,20 <sup>b,A,B</sup>	1,80±0,16 <sup>c,A,B</sup>
	40	2,13±0,15 <sup>a,B</sup>	2,48±0,22 <sup>b,B</sup>	1,78±0,05 <sup>c,B</sup>
	50	2,03±0,24 <sup>a,C</sup>	2,22±0,16 <sup>b,C</sup>	1,52±0,18 <sup>c,C</sup>
	60	1,93±0,20 <sup>a,C</sup>	2,29±0,23 <sup>b,C</sup>	1,42±0,16 <sup>c,C</sup>
Elastičnost	1	0,96±0,02	0,94±0,14	0,96±0,02
	10	0,95±0,02	0,94±0,02	0,95±0,03
	20	0,96±0,02	0,95±0,02	0,96±0,03
	30	0,95±0,01	0,95±0,02	0,95±0,02
	40	0,95±0,02	0,96±0,02	0,94±0,02
	50	0,95±0,03	0,96±0,02	0,96±0,02
	60	0,95±0,03	0,96±0,03	0,97±0,01
Kohezivnost	1	0,85±0,01	0,86±0,04	0,83±0,02
	10	0,83±0,03	0,83±0,01	0,83±0,02
	20	0,84±0,01	0,85±0,01	0,83±0,03
	30	0,84±0,01	0,85±0,02	0,83±0,01
	40	0,83±0,01	0,83±0,06	0,84±0,02
	50	0,85±0,03	0,83±0,02	0,86±0,03
	60	0,85±0,02	0,88±0,04	0,86±0,03
Gumoznost (N)	1	1,93±0,14 <sup>a,A</sup>	2,13±0,18 <sup>a,A</sup>	1,64±0,14 <sup>b,A</sup>
	10	1,88±0,13 <sup>a,A,B</sup>	1,99±0,16 <sup>a,A,B</sup>	1,53±0,22 <sup>b,A,B</sup>
	20	1,80±0,13 <sup>a,B,C,D</sup>	1,92±0,19 <sup>a,B,C,D</sup>	1,39±0,17 <sup>b,B,C,D</sup>
	30	1,92±0,19 <sup>a,A,B,C</sup>	1,84±0,18 <sup>a,A,B,C</sup>	1,40±0,18 <sup>b,A,B,C</sup>
	40	1,88±0,18 <sup>a,B,C,D</sup>	1,92±0,22 <sup>a,B,C,D</sup>	1,29±0,11 <sup>b,B,C,D</sup>
	50	1,89±0,23 <sup>a,C,D</sup>	1,80±0,16 <sup>a,C,D</sup>	1,16±0,12 <sup>b,C,D</sup>
	60	1,59±0,20 <sup>a,D</sup>	1,82±0,19 <sup>a,D</sup>	1,18±0,18 <sup>b,D</sup>
Žvackljivost (N)	1	1,87±0,14 <sup>a,A</sup>	2,00±0,11 <sup>a,A</sup>	1,50±0,12 <sup>b,A</sup>
	10	1,79±0,13 <sup>a,A,B</sup>	1,89±0,14 <sup>a,A,B</sup>	1,42±0,10 <sup>b,A,B</sup>
	20	1,78±0,11 <sup>a,A,B,C</sup>	1,89±0,10 <sup>a,A,B,C</sup>	1,28±0,12 <sup>b,A,B,C</sup>
	30	1,83±0,12 <sup>a,B,C</sup>	1,80±0,18 <sup>a,B,C</sup>	1,17±0,15 <sup>b,B,C</sup>
	40	1,80±0,11 <sup>-C,D</sup>	1,69±0,17 <sup>a,C,D</sup>	1,15±0,18 <sup>b,C,D</sup>
	50	1,62±0,14 <sup>a,D,E</sup>	1,61±0,10 <sup>a,D,E</sup>	1,02±0,17 <sup>a,D,E</sup>
	60	1,42±0,12 <sup>a,E</sup>	1,52±0,11 <sup>a,E</sup>	1,00±0,18 <sup>b,E</sup>
WBSF (N)	1	6,38±0,88 <sup>a,A</sup>	6,82±1,10 <sup>a,A</sup>	7,48±1,23 <sup>a,A</sup>
	10	6,38±0,74 <sup>ab,A</sup>	7,26±0,93 <sup>a,A</sup>	5,94±0,64 <sup>b,B,C</sup>
	20	6,38±0,36 <sup>a,A</sup>	7,48±0,91 <sup>b,A</sup>	6,60±1,01 <sup>ab,A,B</sup>
	30	7,04±0,42 <sup>a,A</sup>	8,36±1,10 <sup>a,A</sup>	5,28±0,94 <sup>b,B,C</sup>
	40	7,92±0,36 <sup>a,A</sup>	7,92±1,18 <sup>a,A</sup>	6,38±0,88 <sup>b,A,B,C</sup>
	50	7,04±1,32 <sup>a,A</sup>	7,26±1,22 <sup>a,A</sup>	4,62±0,68 <sup>b,C</sup>
	60	5,94±0,83 <sup>ab,A</sup>	6,60±1,03 <sup>a,A</sup>	5,06±0,49 <sup>b,B,C</sup>

<sup>1</sup> Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup> Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 8 specimenta x 3 uzorka iz svake grupe). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-D) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.3.7. Mikrobiološki profil

Kao pouzdan indikator stabilnosti prehrambenih proizvoda tokom skladištenja, TPC izabran je kao neophodan parametar ispitivanja mikrobiološke bezbednosti frankfurtera kojima je dodavan dekokt gljive *C. cornucopioides*. Kao što se može videti u Tabeli 30, na dan proizvodnje (1. dan) prisustvo TPC u frankfurterima koji sadrže 1,5% dekokta gljive (T2) nije primećen, indukujući statistički značajnu razliku između ovog tretmana i T1 i C. Ovaj rezultat potvrđuje da je primenjena koncentracija dekokta gljive bila dovoljna da zaštiti tek proizvedene kobasice od razvoja aerobnih mezofilnih bakterija, što direktno utiče na mikrobiološku bezbednost proizvoda. Daljim monitoringom TPC, dvadeseti i četrdeseti dan testiranja potvrđene su značajno niže vrednosti za T2 u odnosu na T1 i C. Pošto su TPC vrednosti postale komparativne nakon 60 dana skladištenja, čini se da dodavanje 1,5% gljive u frankfurtere nije bilo dovoljno da zaštiti kobasice tokom tako dugog vremenskog perioda čuvanja. Podsećanja radi, prosečna dužina skladištenja frankfurtera u našoj zemlji je oko 45 dana, što je u skladu i sa rezultatima dobijenim u ovoj studiji. Antimikrobni potencijal dekokta *C. cornucopioides* u direktnoj je zavisnosti od hemijskog sastava same gljive; pojedine komponente kao što su *p* - hidroksibenzojeva kiselina, protokatehuinska kiselina, galna i ferulinska kiselina doprinose ovoj sposobnosti, kao što su već potvrdili Alves i sar. (2012). TPC u ovoj studiji (T1, T2), šezdeseti dan skladištenja, imali su slične vrednosti u poređenju sa istim proizvodom sa dodatkom gljive *Lentinula edodes* (Pil-Nam i sar., 2015) trideseti dan od momenta proizvodnje. Monitoringom mikrobiološkog statusa tokom 60 dana skladištenja, potvrđeno je da nijedna od tri varijante frankfurtera nije sadržala *Salmonella* spp., *E. coli*, *L. monocytogenes*, koagaulaza pozitivne stafilokoke i sulfitoredukujuće klostridije.

Tabela 30. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (TPC) u frankfurterima tokom skladištenja.

Mikroorganizmi	Vreme skladištenja (dani)	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>
(TPC) (log <sub>10</sub> cfu/g)	1	2,95±0,05 <sup>a,A</sup>	0,00±0,00 <sup>b,A</sup>	2,46±0,15 <sup>c,A</sup>
	20	6,16±0,15 <sup>a,B</sup>	4,01±0,02 <sup>b,B</sup>	5,76±0,06 <sup>c,B</sup>
	40	5,20±0,14 <sup>a,C</sup>	4,01±0,02 <sup>b,B</sup>	4,41±0,11 <sup>c,C</sup>
	60	6,18±0,03 <sup>a,B</sup>	6,03±0,05 <sup>b,C</sup>	5,93±0,08 <sup>b,B</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 3 uzorka). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-C) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). *Salmonella* spp., *Escherichia coli* i *Listeria monocytogenes* nisu detektovani.

### 5.3.8. Procena senzorske prihvatljivosti proizvoda

Senzorske osobine kobasica u tipu frankfurtera sa dodatkom crnom trubom prikazane su u Tabeli 31. U pogledu mirisa, nije utvrđena statistički značajna razlika ( $P > 0,05$ ) između tretmana sa dodatkom crnom trubom i kontrolnog uzorka tokom prvih dvadeset dana skladištenja. Od tridesetog dana

skladištenja pa do kraja čuvanja kobasica, utvrđena je statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) između varijanti sa dodatkom gljivom i kontrole, dok između samih varijanti sa nižom i višom koncentracijom gljive nije bilo značajne razlike. Što se tiče ukusa, činjenica je da je statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) utvrđena između svake varijante i kontrole, sa izuzetkom ispitivanja koje je obavljeno 20 dana nakon skladištenja. U istraživanju koje su sproveli Beluhan i Ranogajec (2011) na deset popularnih jestivih gljiva u Hrvatskoj, *Craterellus cornucopioides* je sadržala najveće količine jedinjenja koja su nalik mononatrijum glutaminatu (45,85 mg/g), jedinjenja koje se u prehrambenoj industriji dodaje u proizvode kao pojačivač ukusa, kao i najveće količine nukleotida koji su odgovorni za pojačavanje ukusa, ali u znatno većem stepenu od mononatrijum glutaminata (35,36 mg/g). Ova jedinjenja zajedno mogu proizvesti još jači miris i ukus gljiva u frankfurterima, pa se kod potrošača koji nisu navikli da jedu ovakve proizvode, a pogotovo one sa izraženim jedinjenjima odgovornim za ukus, javlja određena vrsta odbojnosti prema takvom proizvodu, te u tome treba tražiti razlog za ovakve ocene. U razlikama koje se javljaju kod potrošača, treba istaći i vizuelni utisak prilikom testiranja frankfurtera sa dodatkom gljivom. Naime, crna truba je karakteristične, crne boje i neminovno je da menja boju finalnog proizvoda, čineći je manje karakterističnom od uobičajenih frankfurtera koji se mogu naći na tržištu i koje potrošači kupuju i koriste za ishranu. Što se tiče ukupne prihvatljivosti, rezultati dobijeni za ovaj deo analize mogu se protumačiti kao potvrda rezultata dobijenih za miris i ukus. Naime, i za ukupnu prihvatljivost potvrđena je statistički značajna razlika ( $P < 0,05$ ) između tretmana sa dodatkom gljivom (T1, T2) i bez dodate gljive (C). Tokom skladištenja, nije potvrđena statistički značajna razlika ( $P > 0,05$ ) između prvog i šezdesetog dana testiranja frankfurtera za svaki pojedinačni tretman u pogledu mirisa, ukusa i ukupne prihvatljivosti.

Tabela 31. Senzorske karakteristike frankfurtera tokom skladištenja.

Parametri senzorskog kvaliteta	Vreme skladištenja (dani)	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>1</sup>	C <sup>1</sup>
Miris	1	5,0±2,4 <sup>a,b,A</sup>	4,4±2,6 <sup>a,A</sup>	5,6±2,4 <sup>a,A</sup>
	10	5,7±2,3 <sup>a,A</sup>	5,9±2,4 <sup>a,b,B</sup>	6,5±2,0 <sup>a,A,B</sup>
	20	6,1±2,1 <sup>a,b,A</sup>	6,3±2,2 <sup>a,b,c,B</sup>	6,7±1,9 <sup>a,A,B</sup>
	30	5,2±2,1 <sup>a,A</sup>	5,2±2,4 <sup>a,A,B</sup>	6,8±1,8 <sup>b,B</sup>
	40	5,8±2,6 <sup>a,A</sup>	6,0±2,6 <sup>a,B</sup>	7,0±2,1 <sup>b,B</sup>
	50	5,4±2,3 <sup>a,A</sup>	5,8±2,4 <sup>a,B</sup>	6,3±1,9 <sup>b,A,B</sup>
	60	5,0±1,3 <sup>a,b,A</sup>	5,2±1,1 <sup>a,b,A,B</sup>	6,1±1,5 <sup>b,A,B</sup>
Ukus	1	5,5±2,4 <sup>a,A</sup>	5,3±2,7 <sup>a,A</sup>	6,4±2,2 <sup>b,A</sup>
	10	6,4±1,9 <sup>a,A,B</sup>	6,5±2,1 <sup>a,A,B</sup>	7,5±1,6 <sup>b,B,C</sup>
	20	7,0±2,2 <sup>a,b,B</sup>	6,9±2,3 <sup>a,b,B</sup>	7,5±1,8 <sup>a,B,C</sup>
	30	6,3±1,9 <sup>a,A,B</sup>	6,0±2,3 <sup>a,A,B</sup>	7,3±1,4 <sup>b,B,C</sup>
	40	6,5±2,1 <sup>a,A,B</sup>	6,8±2,6 <sup>a,B</sup>	7,6±1,8 <sup>b,C</sup>
	50	6,1±2,3 <sup>a,A,B</sup>	6,1±2,6 <sup>a,A,B</sup>	6,6±2,0 <sup>b,A,B</sup>
	60	5,4±1,2 <sup>a,A</sup>	5,5±1,1 <sup>a,A,B</sup>	6,5±1,4 <sup>b,A</sup>
Ukupna prihvatljivost	1	5,3±2,3 <sup>a,b,A</sup>	5,1±2,6 <sup>a,A</sup>	6,2±2,1 <sup>b,A</sup>
	10	6,3±2,0 <sup>a,A,B</sup>	6,4±2,1 <sup>a,B</sup>	7,4±1,5 <sup>b,B</sup>
	20	6,7±2,2 <sup>a,b,B</sup>	6,8±2,2 <sup>a,b,B</sup>	7,4±1,7 <sup>a,B</sup>
	30	6,0±2,0 <sup>a,A,B</sup>	5,9±2,2 <sup>a,A,B</sup>	7,3±1,4 <sup>b,B</sup>
	40	6,3±2,4 <sup>a,A,B</sup>	6,5±2,7 <sup>a,B</sup>	7,4±2,0 <sup>b,B</sup>
	50	6,1±2,3 <sup>a,A,B</sup>	6,3±2,6 <sup>a,b,A,B</sup>	6,9±2,0 <sup>b,A,B</sup>
	60	5,5±1,2 <sup>a,A</sup>	5,6±1,1 <sup>a,A,B</sup>	6,5±1,5 <sup>b,A,B</sup>

<sup>1</sup>Skraćenice su date u Tabeli 1.

<sup>2</sup>Vrednosti su date kao srednja vrednost ± standardna devijacija (N = 50 ocenjivača po svakom danu ispitivanja). Vrednosti sa različitim malim slovima (a-c) u istom redu razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ). Vrednosti sa različitim velikim slovima (A-B) u istoj koloni razlikuju se značajno ( $P < 0,05$ ).

### 5.3.9. Zaključak

- Crna truba (*Craterellus cornucopioides*) je pokazala određene antioksidativne karakteristike *in vitro*, te je upotrebljena u proizvodnji frankfurtera u obliku dekokta sa koncentracijama 0,75% i 1,50%, da bi se smanjila oksidacija lipida tokom skladištenja.
- Crna truba pokazala je antimikrobni potencijal prema većini testiranih patogena, što je svrstava u prirodne supstance koje mogu da se primene u prehrambenoj industriji, kako bi se dobili bezbedni proizvodi.
- Nije primećen značajan uticaj gljive na pH vrednost frankfurtera, dok je osnovni hemijski sastav pretrpeo blage promene. Naime, došlo je do rasta sadržaja ukupnih proteina i smanjenja sadržaja masti u kobasicama sa dodatom gljivom.
- Dodatak crne trube uticao je na povećanje sadržaja ukupnih fenola, ali samo u frankfurterima sa većom koncentracijom dodate gljive, dok su kobasice sa dodatom gljivom pokazale

redukovan sadržaj ukupne količine sekundarnih proizvoda oksidacije tokom skladištenja, merene TBARS testom.

- Dodatak crne trube u većem % rezultovao je smanjenjem ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija u odnosu na kontrolu, tokom dužeg perioda hladnog skladištenja, a kobasice su zadržale mikrobiološku stabilnost tokom dva meseca čuvanja.
- Što se tiče teksturalnog profila kobasica sa dodatkom gljiva, treba istaći da nije došlo do narušavanja karakteristične teksture kobasica, te da su zadržale sve svoje osobine tokom skladištenja, što navodi na zaključak da dodavanje gljive ne doprinosi negativnim promenama teksture kobasica.
- Frankfurteri sa dodatkom crnom trubom imali su promenjenu boju finalnog proizvoda, što predstavlja negativnu osobinu kad je u pitanju dodavanje ove vrste gljiva u proizvod.
- Dodatak gljive u frankfurtere za posledicu je imao nešto niže ocene senzorskih karakteristika tokom skladištenja.

## 6. LITERATURA

- Abdullah, N., Ismail, S. M., Aminudin, N., Shuib, A. S., Lau, B. F. (2012). Evaluation of selected culinary-medicinal mushrooms for antioxidant and ACE inhibitory activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.
- Abdullah, N., Lau, C.-C., Ismail, S. M. (2016). Potential use of *Lentinus squarrosulus* mushroom as fermenting agent and source of natural antioxidant additive in livestock feed. 96(5), 1459-1466. doi: 10.1002/jsfa.7242
- Aguirrezábal, M., Mateo, J., Dominguez, M., Zumalacárregui, J. (2000). The effect of paprika, garlic and salt on rancidity in dry sausages. *Meat science*, 54(1), 77-81.
- Alnoumani, H., Ataman, Z. A., Were, L. (2017). Lipid and protein antioxidant capacity of dried *Agaricus bisporus* in salted cooked ground beef. *Meat science*, 129, 9-19.
- Alves, M. J., Ferreira, I. C., Dias, J., Teixeira, V., Martins, A., Pintado, M. (2012). A review on antimicrobial activity of mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated compounds. *Journal of Applied Microbiology*, 78(16), 1707-1718.
- Anil, S., Shukla, Y., Sushil, K. (2000). Recent development in plant derived antimicrobial constituents-a review. *Journal of Medicinal Aromatic Plant Sciences*, 22(2/3), 349-405.
- Anke, T., Kupka, J., Schramm, G., Steglich, W. (1980). Antibiotics from basidiomycetes. XI) scorodonin, a new antibacterial and antifungal metabolite from *marasmius scorodonius* (fr.) Fr *The Journal of Antibiotics: Ser. B*, 33(5), 463-467.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Armenteros, M., Morcuende, D., Ventanas, S., Estévez, M. (2013). Application of Natural Antioxidants from Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) and Dog Rose (*Rosa canina* L.) to Frankfurters Subjected to Refrigerated Storage. *Journal of Integrative Agriculture*, 12(11), 1972-1981. doi: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60635-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60635-8)
- Arora, D. (1986). *Mushrooms demystified: A comprehensive guide to the fleshy fungi*. 1986. *J Berkeley: Ten Speed Press*, 959p.
- Barros, L., Baptista, P., Ferreira, I. C. F. R. (2007). Effect of *Lactarius piperatus* fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. *Food and Chemical Toxicology*, 45(9), 1731-1737. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.03.006>
- Barros, L., Barreira, J. C., Grangeia, C., Batista, C., Cadavez, V. A., Ferreira, I. C. (2011a). Beef burger patties incorporated with *Boletus edulis* extracts: Lipid peroxidation inhibition effects. *European journal of lipid science technology*, 113(6), 737-743.

- Barros, L., Barreira, J. C. M., Grangeia, C., Batista, C., Cadavez, V. A. P., Ferreira, I. C. F. R. (2011b). Beef burger patties incorporated with *Boletus edulis* extracts: Lipid peroxidation inhibition effects. *113*(6), 737-743. doi: 10.1002/ejlt.201000478
- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M., Ferreira, I. C. (2008a). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food Chem Toxicol*, *46*, 2742-2747.
- Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M., Ferreira, I. C. F. R. (2008b). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, *46*(8), 2742-2747. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.04.030>
- Barros, L., Venturini, B. A., Baptista, P., Estevinho, L. M., Ferreira, I. C. F. R. (2008c). Chemical Composition and Biological Properties of Portuguese Wild Mushrooms: A Comprehensive Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(10), 3856-3862. doi: 10.1021/jf8003114
- Beluhan, S., Ranogajec, A. (2011). Chemical composition and non-volatile components of Croatian wild edible mushrooms. *Food Chemistry*, *124*(3), 1076-1082. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.081>
- Benzie, I. F., Strain, J. (1999). [2] Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 15-27): Elsevier.
- Bishop K. S., Kao C. H. J., Xu Y., Glucina M. P., Paterson R. R. M., Ferguson L. R. (2015). From 2000 years of *Ganoderma lucidum* to recent developments in nutraceuticals. *Phytochemistry*, *114*:56-65.
- Bloukas, J., Paneras, E. (1993a). Substituting olive oil for pork backfat affects quality of low-fat frankfurters. *Journal of Food Science*, *58*(4), 705-709.
- Bloukas, J. G., Paneras, E. D. (1993b). Substituting Olive Oil for Pork Backfat Affects Quality of Low-Fat Frankfurters. *Journal of Food Science*, *58*(4), 705-709. doi: 10.1111/j.1365-2621.1993.tb09339.x
- 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 measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, *42*(9), 1931-1937.
- Botterweck, A., Verhagen, H., Goldbohm, R., Kleinjans, J., Van den Brandt, P. (2000). Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands cohort study. *Food and Chemical Toxicology*, *38*(7), 599-605.

- Bourne, M. (1982). *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. Academic Press. *J INC*, *New York*.
- Cachaldora, A., García, G., Lorenzo, J. M., García-Fontán, M. C. (2013). Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on some quality characteristics and the shelf-life of “morcilla”, a typical cooked blood sausage. *Meat Science*, 93(2), 220-225. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.08.028>
- Chang, S. T., Miles, P. G. (1992). Mushroom biology — A new discipline. *Mycologist*, 6(2), 64-65. doi: [https://doi.org/10.1016/S0269-915X\(09\)80449-7](https://doi.org/10.1016/S0269-915X(09)80449-7)
- Chirinang, P., Intarapichet, K.-O. (2009). Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushrooms, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. *Science Asia*, 35(2009), 326-331.
- Choi, S. W., Sapers, G. M. (1994). Effects of washing on polyphenols and polyphenol oxidase in commercial mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Journal of agricultural food chemistry*, 42(10), 2286-2290.
- Cieniecka-Rosłonkiewicz, A., Sas, A., Przybysz, E., Morytz, B., Syguda, A., Pernak, J. (2007). Ionic liquids for the production of insecticidal and microbicidal extracts of the fungus *Cantharellus cibarius*. *Chemistry biodiversity*, 4(9), 2218-2224.
- Costa-Lima, B. R. C., Canto, A. C. V. C. S., Suman, S. P., Conte-Junior, C. A., Silveira, E. T. F., Silva, T. J. P. (2014). Sex-specific effect of ractopamine on quality attributes of pork frankfurters. *Meat Science*, 96(2, Part A), 799-805. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.10.001>
- 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(3), 501-508. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.01.004>
- Dimitrijevic, M., Jovanovic, V. S., Cvetkovic, J., Mihajilov-Krstev, T., Stojanovic, G., Mitic, V. (2015). Screening of antioxidant, antimicrobial and antiradical activities of twelve selected Serbian wild mushrooms. [10.1039/C4AY03011G]. *Analytical Methods*, 7(10), 4181-4191. doi: 10.1039/C4AY03011G
- Dimitrijević, M. V., Mitić, V. D., Stankov-Jovanović, V. P., Nikolić, J. S., Stojanović, G. S. (2016). Comprehensive evaluation of the antioxidant activity of six wild edible mushroom species. *Advanced Technologies*, 5(2), 53-59.
- Djekic, I., Vunduk, J., Tomašević, I., Kozarski, M., Petrovic, P., Niksic, M., Pudja, P., Klaus, A. (2017). Application of quality function deployment on shelf-life analysis of *Agaricus bisporus* Portobello. *LWT*, 78, 82-89. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.12.036>
- Dundar, A., Acay, H., Yildiz, A. (2008). Yield performances and nutritional contents of three oyster mushroom species cultivated on wheat stalk. *African Journal of Biotechnology*, 7(19).



- Ekanayake, P. M., Park, G. T., Lee, Y. D., Kim, S. J., Jeong, S. C., Lee, J. (2005). Antioxidant potential of eel (*Anguilla japonica* and *Conger myriaster*) flesh and skin. *Journal of food lipids*, 12(1), 34-47.
- Elmastas, M., Isildak, O., Turkecul, I., Temur, N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition Analysis*, 20(3-4), 337-345.
- Falandysz, J., Widzicka, E., Kojta, A. K., Jarzyńska, G., Drewnowska, M., Dryżałowska, A., Danisiewicz-Czupryńska, D., Lenz, E., Nnorom, I. C. (2012). Mercury in Common Chanterelles mushrooms: *Cantharellus* spp. update. *Food Chemistry*, 133(3), 842-850. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.102>
- Feiner, G. (2006). *Meat products handbook: Practical science and technology*: Elsevier.
- Fernández-López, J., Lucas-González, R., Viuda-Martos, M., Sayas-Barberá, E., Navarro, C., Haros, C. M., Pérez-Álvarez, J. A. (2019). Chia (*Salvia hispanica* L.) products as ingredients for reformulating frankfurters: Effects on quality properties and shelf-life. *Meat science*.
- Ferreira, I. C., Barros, L., Abreu, R. (2009). Antioxidants in wild mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*, 16(12), 1543-1560.
- Frankel, E. N., Meyer, A. S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food Agriculture Handbook*, 80(13), 1925-1941.
- Fuhrer, B. A. (2005). *Field Guide to Australian Fungi*: Bloomings Books Pty Ltd.
- Gao, Y., Tang, W., Gao, H., Chan, E., Lan, J., Li, X., Zhou, S. (2005). Antimicrobial activity of the medicinal mushroom *Ganoderma*. *Food Reviews International*, 21(2), 211-229.
- Griffin, D. H. (1996). *Fungal physiology*: John Wiley & Sons.
- Han, H., Zhang, G., HAO, J.-w., WANG, D.-b., HE, Y.-q. (2008). Studies on antibacterial role of dictyophora gown. *Food Res Dev*, 29(5), 129-131.
- Heleno, S. A., Ferreira, R. C., Antonio, A. L., Queiroz, M.-J. R., Barros, L., Ferreira, I. C. (2015). Nutritional value, bioactive compounds and antioxidant properties of three edible mushrooms from Poland. *Food bioscience*, 11, 48-55.
- Horita, C. N., Farías-Campomanes, A. M., Barbosa, T. S., Esmerino, E. A., da Cruz, A. G., Bolini, H. M. A., Meireles, M. A. A., Pollonio, M. A. R. (2016). The antimicrobial, antioxidant and sensory properties of garlic and its derivatives in Brazilian low-sodium frankfurters along shelf-life. *Food Research International*, 84, 1-8. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.02.006>
- Huang, D., Ou, B., Prior, R. L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856. doi: 10.1021/jf030723c

- Hwang, K.-E., Kim, H.-W., Song, D.-H., Kim, Y.-J., Ham, Y.-K., Lee, J.-W., Choi, Y.-S., Kim, C.-J. (2015). Effects of antioxidant combinations on shelf stability of irradiated chicken sausage during storage. *Radiation Physics and Chemistry*, 106, 315-319. doi: <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2014.08.014>
- Jamora, J., Rhee, K. (2002). Storage stability of extruded products from blends of meat and nonmeat ingredients: Evaluation methods and antioxidative effects of onion, carrot, and oat ingredients. *Journal of food science*, 67(5), 1654-1659.
- Janero, D. R. (1990). Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Biology & Medicine*, 9(6), 515-540.
- Jaworska, G., Bernaś, E. (2009). The effect of preliminary processing and period of storage on the quality of frozen *Boletus edulis* (Bull: Fr.) mushrooms. *Food Chemistry*, 113(4), 936-943.
- Jaworska, G., Pogoń, K., Skrzypczak, A., Bernaś, E. (2015). Composition and antioxidant properties of wild mushrooms *Boletus edulis* and *Xerocomus badius* prepared for consumption. *Journal of food science technology*, 52(12), 7944-7953.
- Jiménez-Zamora, A., Delgado-Andrade, C., Rufián-Henares, J. A. (2016). Antioxidant capacity, total phenols and color profile during the storage of selected plants used for infusion. *Food chemistry*, 199, 339-346.
- Joksimović, J. (1978). *Tehnologija suvomesnatih proizvoda i kobasica*: Institut za prehrambenu tehnologiju i biohemiju Poljoprivrednog fakulteta.
- Karre, L., Lopez, K., Getty, K. J. (2013). Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat science*, 94(2), 220-227.
- Khaskheli, S. G., Zheng, W., Sheikh, S. A., Khaskheli, A. A., Liu, Y., Soomro, A. H., Feng, X., Sauer, M. B., Wang, Y. F., Huang, W. (2015). Characterization of *Auricularia auricula* polysaccharides and its antioxidant properties in fresh and pickled product. *International journal of biological macromolecules*, 81, 387-395.
- Klaus, A., Kozarski, M., Vunduk, J., Todorovic, N., Jakovljevic, D., Zizak, Z., Pavlovic, V., Levic, S., Niksic, M., Van Griensven, L. J. (2015). Biological potential of extracts of the wild edible Basidiomycete mushroom *Grifola frondosa*. *Food Research International* 67, 272-283.
- Kol, S., Bostancı, A., Kocabas, A., Uzun, Y., Sadi, G. (2018). Cell growth inhibitory potential of *Craterellus cornucopioides* (L.) Pers. together with antioxidant and antimicrobial properties. *Anatolian Journal of Botany*, 2, 60-64. doi: 10.30616/ajb.413645
- Kosanic, M., Rankovic, B., Dasic, M. (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of mushrooms. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19(5), 1040-1046.
- Kosanić, M., Ranković, B., Dašić, M. (2012). Mushrooms as possible antioxidant and antimicrobial agents. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 11(4), 1095.

- Kosanić, M., Ranković, B., Stanojković, T., Radović-Jakovljević, M., Ćirić, A., Grujičić, D., Milošević-Djordjević, O. (2019). Craterellus cornucopioides Edible Mushroom as Source of Biologically Active Compounds. *Natural Product Communications*, 14(5), 1934578X19843610. doi: 10.1177/1934578X19843610
- Kozarski, M. (2012). Hemijska karakterizacija, antioksidativna i antimikrobna svojstva polisaharidnih ekstrakata odabranih vrsta gljiva. *Univerzitet u Beogradu*.
- Kozarski, M., Klaus, A., Jakovljevic, D., Todorovic, N., Vunduk, J., Petrović, P., Niksic, M., Vrvic, M. M., Van Griensven, L. (2015). Antioxidants of edible mushrooms. *Molecules and Cells*, 20(10), 19489-19525.
- Kozarski, M., Klaus, A., Niksic, M., Jakovljevic, D., Helsper, J. P., Van Griensven, L. J. (2011). Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms Agaricus bisporus, Agaricus brasiliensis, Ganoderma lucidum and Phellinus linteus. *Food Chemistry*, 129(4), 1667-1675.
- Kucharski, H., Zajac, J. (2009). *Handbook of vitamin C research: daily requirements, dietary sources and adverse effects*: Nova Science Publishers, Inc.
- Kuliscic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food chemistry*, 85(4), 633-640.
- Kuntz, S., Wenzel, U., Daniel, H. (1999). Comparative analysis of the effects of flavonoids on proliferation, cytotoxicity, and apoptosis in human colon cancer cell lines. *European journal of nutrition*, 38(3), 133-142.
- Kurčubić, V. S., Mašković, P. Z., Vujić, J. M., Vranić, D. V., Vesković-Moračanin, S. M., Okanović, Đ. G., Lilić, S. V. (2014). Antioxidant and antimicrobial activity of Kitaibelia vitifolia extract as alternative to the added nitrite in fermented dry sausage. *Meat Science*, 97(4), 459-467. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.03.012>
- Lee, J.-Y., Kunz, B. (2005). The antioxidant properties of baechu-kimchi and freeze-dried kimchi-powder in fermented sausages. *Meat Science*, 69(4), 741-747. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.11.006>
- Lee, Y.-L., Huang, G.-W., Liang, Z.-C., Mau, J.-L. (2007a). Antioxidant properties of three extracts from Pleurotus citrinopileatus. *LWT - Food Science and Technology*, 40(5), 823-833. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.04.002>
- Lee, Y.-L., Yen, M.-T., Mau, J.-L. (2007b). Antioxidant properties of various extracts from Hypsizigus marmoreus. *Food chemistry*, 104(1), 1-9.
- Leroy, F., Degreef, F. (2015). Convenient meat and meat products. Societal and technological issues. *Appetite*, 94, 40-46.

- Liu, Y.-T., Sun, J., Luo, Z.-Y., Rao, S.-Q., Su, Y.-J., Xu, R.-R., Yang, Y.-J. (2012). Chemical composition of five wild edible mushrooms collected from Southwest China and their antihyperglycemic and antioxidant activity. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1238-1244. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.01.023>
- Lo, S. (2005). Quality evaluation of *Agaricus bisporus*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ferulae* and *Pleurotus ostreatus* and their antioxidant properties during postharvest storage.
- Lorenzo, J. M., González-Rodríguez, R. M., Sánchez, M., Amado, I. R., Franco, D. (2013). Effects of natural (grape seed and chestnut extract) and synthetic antioxidants (butylatedhydroxytoluene, BHT) on the physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of dry cured sausage “chorizo”. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 54(1), 611-620.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Mandić, R. (2018). *Ekološko-proizvodni potencijali i unapređenje sistema kontrole sakupljanja, korišćenja i prometa divljih vrsta biljaka, gljiva i životinja u Republici Srbiji*. Универзитет Сингидунум, Факултет за примењену екологију [ФУТУРА].
- Maqsood, S., Benjakul, S. (2011). Comparative studies on molecular changes and pro-oxidative activity of haemoglobin from different fish species as influenced by pH. *Food Chemistry*, 124(3), 875-883.
- Mau, J.-L., Tsai, S.-Y., Tseng, Y.-H., Huang, S.-J. (2005). Antioxidant properties of hot water extracts from *Ganoderma tsugae* Murrill. *LWT - Food Science and Technology*, 38(6), 589-597. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.08.010>
- McGough, M. M., Sato, T., Rankin, S. A., Sindelar, J. J. (2012). Reducing sodium levels in frankfurters using a natural flavor enhancer. *Meat Science*, 91(2), 185-194. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.018>
- Min, B., Ahn, D. (2005). Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products-A review. *Food Science and Biotechnology*, 14(1), 152-163.
- Munekata, P. E. S., Rocchetti, G., Pateiro, M., Lucini, L., Domínguez, R., Lorenzo, J. M. (2020). Addition of plant extracts to meat and meat products to extend shelf-life and health-promoting attributes: An overview. *Current Opinion in Food Science*. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.03.003>
- Naveena, B. M., Vaithiyanathan, S., Muthukumar, M., Sen, A. R., Kumar, Y. P., Kiran, M., Shaju, V. A., Chandran, K. R. (2013). Relationship between the solubility, dosage and antioxidant capacity of carnosic acid in raw and cooked ground buffalo meat patties and chicken patties. *Meat Science*, 95(2), 195-202. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.04.043>

- Nikmaram, N., Budaraju, S., Barba, F. J., Lorenzo, J. M., Cox, R. B., Mallikarjunan, K., Roohinejad, S. (2018). Application of plant extracts to improve the shelf-life, nutritional and health-related properties of ready-to-eat meat products. *Meat Science*, 145, 245-255. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.06.031>
- Novaković, S., Tomašević, I. (2017). *A comparison between Warner-Bratzler shear force measurement and texture profile analysis of meat and meat products: a review*. Paper presented at the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.
- Obuchi, T., Kondoh, H., Watanabe, N., Tamai, M., Imura, S., Jun-Shan, Y., Xiao-Tian, L. (1990). Armillaric Acid, A New Antibiotic Produced by *Armillaria mellea*. *Planta Med*, 56(02), 198-201. doi: 10.1055/s-2006-960925
- Ockerman, H. W. (1985). *Quality control of post-mortem muscle tissue*: Dept. of Animal Science, Ohio State University.
- Oyetayo, V., Ariyo, O. (2013). Antimicrobial and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* (Jacq: Fries) cultivated on different tropical woody substrates. *Journal of Waste Conversion, Bioproducts Biotechnology*, 1(2), 28-32.
- Öztürk, M., Aydoğmuş-Öztürk, F., Duru, M. E., Topçu, G. (2007). Antioxidant activity of stem and root extracts of Rhubarb (*Rheum ribes*): An edible medicinal plant. *Food chemistry*, 103(2), 623-630.
- Öztürk, M., Duru, M. E., 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 Chemical Toxicology*, 49(6), 1353-1360.
- Özvural, E. B., Vural, H. (2011). Grape seed flour is a viable ingredient to improve the nutritional profile and reduce lipid oxidation of frankfurters. *Meat Science*, 88(1), 179-183. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.12.022>
- Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E., Başkan, K. S., Erçağ, E., Esin Çelik, S., Baki, S., Yıldız, L., Karaman, Ş., Apak, R. (2011). A comprehensive review of CUPRAC methodology. [10.1039/C1AY05320E]. *Analytical Methods*, 3(11), 2439-2453. doi: 10.1039/C1AY05320E
- Palacios, I., Lozano, M., Moro, C., D'Arrigo, M., Rostagno, M. A., Martínez, J. A., García-Lafuente, A., Guillamón, E., Villares, A. (2011). Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. *Food Chemistry*, 128(3), 674-678. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.085>
- Patel, S., Goyal, A. (2012). Recent developments in mushrooms as anti-cancer therapeutics: a review. *Biotechnic and Histochemistry*, 2(1), 1-15.

- Pereira, A. L. F., Abreu, V. K. G. (2018). Lipid Peroxidation in Meat and Meat Products *Lipid Peroxidation*: IntechOpen.
- Peryam D. R., Pilgrim F. J. (1957): Hedonic scale method of measuring food preferences. *Food Technology*. 11: 9-14.
- Petrović, P., Vunduk, J., Klaus, A., Kozarski, M., Nikšić, M., Žižak, Ž., Vuković, N., Šekularac, G., Drmanić, S., Bugarski, B. (2016). Biological potential of puffballs: A comparative analysis. *Journal of functional foods*, 21, 36-49.
- Pil-Nam, S., Park, K.-M., Kang, G.-H., Cho, S.-H., Park, B.-Y., Van-Ba, H. (2015). The impact of addition of shiitake on quality characteristics of frankfurter during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1, Part 1), 62-68. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.032>
- Pilz, D., Norvell, L., Danell, E., Molina, R. (2003). General Technical Report PNW-GTR-576. *United States Department of Agriculture*.
- Pintado, T., Herrero, A. M., Jiménez-Colmenero, F., Ruiz-Capillas, C. (2016). Strategies for incorporation of chia (*Salvia hispanica* L.) in frankfurters as a health-promoting ingredient. *Meat Science*, 114, 75-84. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.12.009>
- Pokorný, J. (1991). Natural antioxidants for food use. *Trends in Food Science & Technology*, 2, 223-227. doi: [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(91\)90695-F](https://doi.org/10.1016/0924-2244(91)90695-F)
- Pons, M., Fiszman, S. (1996). Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. *Journal of Texture Studies*, 27(6), 597-624.
- Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural food chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Puttaraju, N. G., Venkateshaiah, S. U., Dharmesh, S. M., Urs, S. M. N., Somasundaram, R. (2006). Antioxidant Activity of Indigenous Edible Mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 9764-9772. doi: 10.1021/jf0615707
- Ranucci, D., Miraglia, D., Branciarri, R., Morganti, G., Roila, R., Zhou, K., Jiang, H., Braconi, P. (2018). Frankfurters made with pork meat, emmer wheat (*Triticum dicoccum* Schübler) and almonds nut (*Prunus dulcis* Mill.): evaluation during storage of a novel food from an ancient recipe. *Meat Science*, 145, 440-446. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.028>
- Rathore, H., Prasad, S., Sharma, S. (2017). Mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health: A review. *PharmaNutrition*, 5(2), 35-46. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phanu.2017.02.001>

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology medicine & Global Survival*, 26(9-10), 1231-1237.
- Rede, R., Petrović, L. (1997). Tehnologija mesa i nauka o mesu. *Tehnološki fakultet Novi Sad*.
- Ribas-Agusti, A., Gratacós-Cubarsí, M., Sárraga, C., Guàrdia, M. D., García-Regueiro, J.-A., Castellari, M. (2014). Stability of phenolic compounds in dry fermented sausages added with cocoa and grape seed extracts. *LWT-Food Science Technology*, 57(1), 329-336.
- Roody, W. C. (2015). *Mushrooms of West Virginia and the central Appalachians*: University Press of Kentucky.
- Sabina, Y., Rahman, A., Ray, R. C., Montet, D. (2011). Yersinia enterocolitica: mode of transmission, molecular insights of virulence, and pathogenesis of infection. *Journal of pathogens*, 2011.
- Sánchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Science and Technology International*, 8(3), 121-137. doi: 10.1106/108201302026770
- Sánchez, C. (2010). Cultivation of Pleurotus ostreatus and other edible mushrooms. *Applied microbiology biotechnology*, 85(5), 1321-1337.
- Sánchez, C. (2017). Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2(1), 13-22. doi: <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2016.12.001>
- Sarikurku, C., Tepe, B., Yamac, M. (2008). Evaluation of the antioxidant activity of four edible mushrooms from the Central Anatolia, Eskisehir – Turkey: Lactarius deterrimus, Suillus collitinus, Boletus edulis, Xerocomus chrysenteron. *Bioresource Technology*, 99(14), 6651-6655. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.062>
- Scalbert, A., Johnson, I. T., Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 215S-217S.
- Shah, M. A., Bosco, S. J. D., Mir, S. A. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat science*, 98(1), 21-33.
- Shahidi, F., Zhong, Y. (2005). Lipid oxidation: measurement methods. *Bailey's industrial oil fat products*.
- Shen, H. S., Shao, S., Chen, J. C., Zhou, T. (2017). Antimicrobials from mushrooms for assuring food safety. *Comprehensive Reviews in Food Science Food Safety*, 16(2), 316-329.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178): Elsevier.
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., Knez, Ž. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant

activities. *Food Chemistry*, 89(2), 191-198. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.025>

Smânia, A., Monache, F. D., Smânia, E. F. A., Gil, M. L., Benchetrit, L. C., Cruz, F. S. (1995). Antibacterial activity of a substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr. *Journal of Ethnopharmacology*, 45(3), 177-181. doi: [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(94\)01212-I](https://doi.org/10.1016/0378-8741(94)01212-I)

Smânia, E. d. F. A., Smânia Júnior, A., Loguercio-Leite, C. (1998). Cinnabarin synthesis by *Pycnoporus sanguineus* strains and antimicrobial activity against bacteria from food products. *Revista de microbiologia*, 29(4), 317-320.

Šojić, B. V., Petrović, L. S., Pešović, B. M., Tomović, V. M., Jakanović, M. R., Džinić, N. R., Salitrežić, P. P. (2011). The influence of inulin addition on the physico-chemical and sensory characteristics of reduced-fat cooked sausages. [Article]. *Acta Periodica Technologica*, 42, 157-164. doi: 10.2298/APT1142157S

SRPS ISO 1442 (1998). Meso i proizvodi od mesa. Određivanje sadržaja vlage.

SRPS ISO 937 (1992). Meso i proizvodi od mesa. Određivanje sadržaja azota (referentna metoda).

SRPS ISO 1443 (1992). Meso i proizvodi od mesa. Određivanje sadržaja ukupne masti.

SRPS ISO 2917 (2004). Meso i proizvodi od mesa. Merenje pH.

SRPS ISO 4833-2 (2017). Mikrobiologija lanca ishrane – Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama – Deo 2.

SRPS ISO 7251 (2018). Mikrobiologija lanca ishrane – Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja suspektnih *Escherichia coli*.

SRPS ISO 6579 (2017). Mikrobiologija lanca ishrane – Horizontalna metoda za otkrivanje i brojanje *Salmonella* spp. - Deo 1.

SRPS ISO 11290-1 (2017). Mikrobiologija lanca hrane – Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja *Listeria monocytogenes* i *Listeria* spp. – Deo 1.

SRPS ISO 6888-1 (2009). Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za brojanje koagulaza pozitivnih stafilokoka (*Staphylococcus aureus* i drugih vrsta) - Deo 1.

SRPS ISO 7937 (2008). Mikrobiologija hrane i hrane za životinje - Horizontalna metoda za određivanje *Clostridium perfringens*.



- Stefanello, F. S., Cavalheiro, C. P., Ludtke, F. L., Silva, M. d. S. d., Fries, L. L. M., Kubota, E. H. (2015). Oxidative and microbiological stability of fresh pork sausage with added sun mushroom powder *J Ciência e Agrotecnologia*. 39, 381-389.
- Szweykowska, A., Szweykowski, J. (2003). Słownik botaniczny.(Botanical dictionary). Wiedza Powszechna, Warszawa.
- Tahmouzi, S., Razavi, S. H., Safari, M., Emam-Djomeh, Z. (2012). Influence of beet sugar, calcium lactate, and staphylococcus xylosus (with nitrate reductase activity) on the chemical, microbiological, and sensorial properties of Persian uncured frankfurters. *Journal of Food Science*, 77(10), M565-M571.
- Tan, D., Wu, R., Liang, M., Lin, Y. (2002). Studies on chemical compositions and antimicrobial activity of volatile oil of *Dictyophora echinovolvata*. *Mycosystema*, 21(2), 228-233.
- Troutt, E., Hunt, M., Johnson, D., Claus, J., Kastner, C., Kropf, D., Stroda, S. (1992). Chemical, physical, and sensory characterization of ground beef containing 5 to 30 percent fat. *Journal of Food Science*, 57(1), 25-29.
- Tsai, S.-Y., Tsai, H.-L., Mau, J.-L. (2007a). Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, and *Boletus edulis*. *LWT-Food Science Technology* 40(8), 1392-1402.
- Tsai, S.-Y., Tsai, H.-L., Mau, J.-L. (2007b). Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, and *Boletus edulis*. *LWT - Food Science and Technology*, 40(8), 1392-1402. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.10.001>
- Valentão, P., Andrade, P. B., Rangel, J., Ribeiro, B., Silva, B. M., Baptista, P., Seabra, R. M. (2005). Effect of the Conservation Procedure on the Contents of Phenolic Compounds and Organic Acids in Chanterelle (*Cantharellus cibarius*) Mushroom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12), 4925-4931. doi: 10.1021/jf0580263
- Vamanu, E., Nita, S. (2013). Antioxidant capacity and the correlation with major phenolic compounds, anthocyanin, and tocopherol content in various extracts from the wild edible *Boletus edulis* mushroom. *BioMed Research International*, 2013.
- Van Ba, H., Seo, H.-W., Cho, S.-H., Kim, Y.-S., Kim, J.-H., Ham, J.-S., Park, B. Y., Pil Nam, S. (2016). Antioxidant and anti-foodborne bacteria activities of shiitake by-product extract in fermented sausages. *Food Control*, 70, 201-209. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.05.053>
- Vetter, J. (2019). Biological values of cultivated mushrooms—A review: Akadémiai Kiadó.
- Vidović, S. (2011). Ekstrakcija, sastav, delovanje i moguće primene odabranih vrsta pečuraka.
- Vidović, S. S., Mujić, I. O., Zeković, Z. P., Lepojević, Ž. D., Tumbas, V. T., Mujić, A. I. (2010). Antioxidant properties of selected *Boletus* mushrooms. *Food Biophysics*, 5(1), 49-58.

- Villares, A., Mateo-Vivaracho, L., García-Lafuente, A., Guillaumon, E. (2014). Storage temperature and UV-irradiation influence on the ergosterol content in edible mushrooms. *J Food chemistry*, 147, 252-256.
- Vujovic, D., Pejin, B., Popovic Djordjevic, J., Velickovic, M., Tesevic, V. (2016). Phenolic natural products of the wines obtained from three new Merlot clone candidates. *Natural product research*, 30(8), 987-990.
- Vuković, I. (2012). Osnove tehnologije mesa. *Beograd, Veterinarska komora Srbije*.
- Vunduk, J., Klaus, A., Kozarski, M., Petrovic, P., Zizak, Z., Niksic, M., Van Griensven, L. (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).
- Wang, P., Xu, X.-l., Zhou, G.-h. (2009). Effects of Meat and Phosphate Level on Water-Holding Capacity and Texture of Emulsion-Type Sausage During Storage. *Agricultural Sciences in China*, 8(12), 1475-1481. doi: [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(08\)60361-2](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60361-2)
- Watanabe, F., Schwarz, J., Takenaka, S., Miyamoto, E., Ohishi, N., Nelle, E., Hochstrasser, R., Yabuta, Y. (2012). Characterization of vitamin B12 compounds in the wild edible mushrooms black trumpet (*Craterellus cornucopioides*) and golden chanterelle (*Cantharellus cibarius*). *Journal of nutritional science vitaminology*, 58(6), 438-441.
- Wójciak, K. M., Karwowska, M., Dolatowski, Z. (2014a). Use of acid whey and mustard seed to replace nitrites during cooked sausage production. *Meat science*, 96(2), 750-756.
- Wójciak, K. M., Karwowska, M., Dolatowski, Z. J. (2014b). Use of acid whey and mustard seed to replace nitrites during cooked sausage production. *Meat Science*, 96(2, Part A), 750-756. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.09.002>
- Xiong, Y. (2007). Meat binding: emulsions and batters. *American Meat Science Association: Champaign, IL, USA*, 1-28.
- Yang, W.-W., Wang, L.-M., Gong, L.-L., Lu, Y.-M., Pan, W.-J., Wang, Y., Zhang, W.-N., Chen, Y. (2018). Structural characterization and antioxidant activities of a novel polysaccharide fraction from the fruiting bodies of *Craterellus cornucopioides*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 117, 473-482. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.212>
- Youssef, M. K., Barbut, S., Smith, A. (2011). Effects of pre-emulsifying fat/oil on meat batter stability, texture and microstructure. 46(6), 1216-1224. doi: 10.1111/j.1365-2621.2011.02607.x
- Zhu, Q., Gooneratne, R., Hussain, M. A. (2017). *Listeria monocytogenes* in fresh produce: outbreaks, prevalence and contamination levels. *Foods*, 6(3), 21.

Živković, I. (1986). Zagreb, Higijena i tehnologija mesa: II. dio, Kakvoća i prerada.

Zjawiony, J. K. (2004). Biologically active compounds from Aphyllophorales (polypore) fungi. *Journal of natural products*, 67(2), 300-310.

Službeni Glasnik RS 50/19 (2019). Pravilnik o kvalitetu usitnjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa.

## PRILOG



Slika 1: Proizvodnja ledenog dekokta gljiva



Slika 2. Izrada mesne emulzije sa dodatkom dekokta gljiva



Slika 3. Toplotni tretman frankfurtera

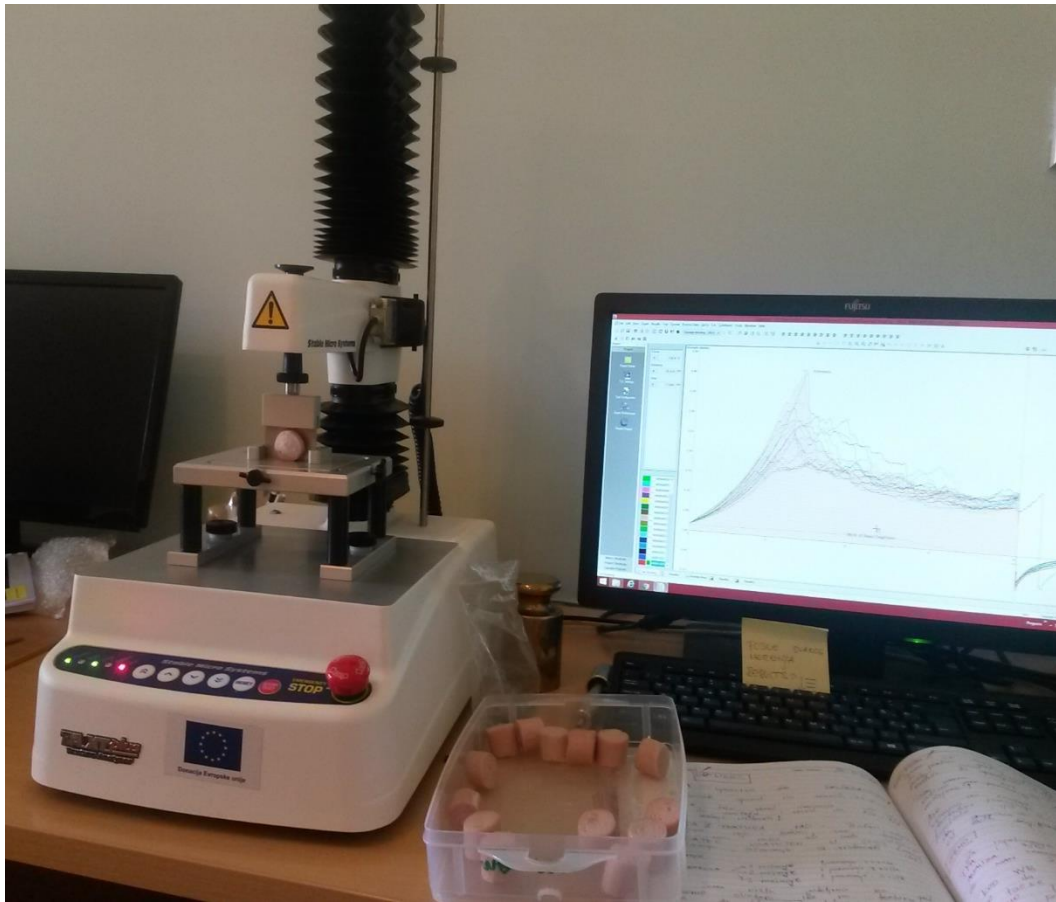


Slika 4. Šifriranje i pakovanje frankfurtera u vakuum kese



Slika 5. Merenje boje frankfurtera nakon 60 dana skladištenja





Slika 6. Merenje teksture frankfurtera

## **BIOGRAFIJA KANDIDATA**

Saša M. Novaković rođen je 20.11.1990. godine u Priboju, Republika Srbija. Diplomirao je na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu 2013. godine sa prosečnom ocenom 8,87 (osam osamdeset sedam) i ocenom 10 (deset) na diplomskom ispitu. Nakon završenih osnovnih akademskih studija, kandidat je 2013. godine upisao master akademske studije na istom fakultetu, a početkom 2014. godine zaposlio se u industriji mesa „PKB Imes“ kao tehnolog u proizvodnji. Kandidat je završio master studije 2015. godine i okončao rad u industriji mesa, te je upisao doktorske akademske studije na smeru Prehrambena tehnologija školske 2015/2016. godine, uža naučna oblast istraživanja Nauka o mesu.

Od 01.01.2017. godine zaposlen je na Poljoprivrednom fakultetu, na Nacionalnom projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja: „Unapređenje i razvoj higijenskih i tehnoloških postupaka u proizvodnji namirnica životinjskog porekla u cilju dobijanja kvalitetnih i bezbednih proizvoda konkurentnih na svetskom tržištu“, najpre kao istraživač pripravnik, a zatim i kao istraživač saradnik, u kom zvanju je i u trenutku pisanja ove disertacije.

Do sada je u saradnji sa drugim autorima objavio 5 naučnih radova u uglednim inostranim časopisima i 8 radova/saopštenja u domaćim časopisima i međunarodnim kongresima. Autor se aktivno služi engleskim jezikom (FCE sertifikat).

## Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Saša M. Novaković

Broj indeksa: TH 15/35

### Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom:

**Uticaj dodatka vrganja (*Boletus edulis*), lisičarke (*Cantharellus cibarius*) i crne trube (*Craterellus cornucopioides*) na ukupan kvalitet barenih kobasica u tipu frankfurtera**

- Rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

**Potpis autora**

U Beogradu, \_\_\_\_\_.

## **Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije**

Ime i prezime autora: **Saša M. Novaković**

Broj indeksa: **TH 15/35**

Studijski program: **Prehrambena tehnologija**

Naslov doktorske disertacije:

**Uticaj dodatka vrganja (*Boletus edulis*), lisičarke (*Cantharellus cibarius*) i crne trube (*Craterellus cornucopioides*) na ukupan kvalitet barenih kobasica u tipu frankfurtera**

Mentor: prof. dr Igor Tomašević, vanredni profesor

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije istovetna elektronskoj verziji koju sam predao radi pohranjenja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis autora**

U Beogradu, \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_

## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

**Uticaj dodatka vrganja (*Boletus edulis*), lisičarke (*Cantharellus cibarius*) i crne trube (*Craterellus cornucopioides*) na ukupan kvalitet barenih kobasica u tipu frankfurtera**

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
- 3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)**
4. Autorstvo – nekomercijalno– deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci. Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave.).

**Potpis autora**

U Beogradu, \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_

1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.