

3
4
5 **ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ЗАВРШЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

6
7 **I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ:**

8
9 1. **Датум и назив органа који је именовао комисију:** 20.04.2016., 167. седница
10 Наставно-научног већа Факултета ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

11
12 2. **Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива**
13 **уже научне области за коју је изабран у звање, годином избора у звање и назив**
14 **факултета, установе у којој је члан комисије запослен:**

15 1. др Милан Ж. Балтић, редовни професор у пензији, Хигијена и технологија меса, 1996.
16 год. Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

17 2. др Вера Катић, редовни професор, Хигијена и технологија млека, 1996. год. Факултет
18 ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

19 3. др Неђељко Карабасил, ванредни професор, Хигијена и технологија меса, 2013. год.
20 Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

21 4. др Марија Докмановић, научни сарадник, Хигијена и технологија меса, 2014. год.,
22 Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду

23 5. др Весна Ђорђевић, виши научни сарадник, Хигијена и технологија меса, 2016. год.,
24 Институт за хигијену и технологију меса, Београд

25
26 **II 1. Име, име једног родитеља, презиме:** Марија, Драган, Бошковић

27
28 2. **Датум рођења, општина, Република:** 06.11.1987. год., Београд, општина Савски
29 венац, Србија

30
31 3. **Датум одбране, место и назив магистарске тезе*:**

32 4. **Научна област из које је стечено академско звање магистра наука*:**

33
34 **III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:** „Испитивање утицаја одабраних
35 етарских уља на раст *Salmonella* spp. у месу свиња пакованог у вакуум и
36 модификовану атмосферу“

37 **IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ :**

38 Докторска дисертација Марије Бошковић написана је на 365 страна текста и садржи
39 следећа поглавља: Увод (две стране), Преглед литературе (58 страна), Циљеви и
40 задаци истраживања (две стране), Материјал и методе истраживања (21 страна),
41 Резултати истраживања (100 страна), Дискусија (56 стране), Закључци (три стране),
42 Списак литературе (48 страна, 561 референце) и Прилог (110 страна). На почетку
43 дисертације дат је кратак садржај на српском и енглеском језику (укупно девет страна).
44 Дисертација је документована са 266 табеле (од којих се 36 налази у поглављу
45 Резултати, а 230 табела налази у Прилогу) и 37 графикана.

46
47 **V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ :**

48 У Уводу кандидат истиче да са аспекта безбедности хране, опасности пореклом из меса
49 које могу да угрозе здравље људи дефинишу се као биолошке (бактерије, вируси,
50 гљивице, приони, паразити), хемијске (остаци токсичних елемената, пестицида,
51 микотоксина, халогених угљоводоника и ветеринарских лекова) и физичке (метални
52 фрагменти, стакло, дрво, пластика). Као најзначајније са епидемиолошког аспекта
53 издвајају се биолошке опасности које најчешће угрожавају безбедност меса и
54 представљају извор патогених микроорганизама. Као патогени микроорганизми
55 пореклом из меса који изазивају обољења преносива храном најчешће се помињу
56 *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*,
57 *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*,
58 *Bacillus* spp. и *Shigella* spp. Према подацима Светске здравствене организације (World
59 Health Organization-WHO), болести преносиве храном представљају све већи, како
60 здравствени, тако и економски проблем у земљама у развоју, али и у развијеним

1 земљама и узрок су милиона обољења људи годишње на глобалном нивоу. *Salmonella*
2 spp. и поред деценијских истраживања, уложених напора у њиховој контроли,
3 побољшања хигијене процеса производње, предузетих мера сузбијања и превенције,
4 константног мониторинга и даље представљају једног од најзаступљенијих патогених
5 микроорганизама проузроковача болести преносивих храном.

6 У циљу сузбијања салмонелозе, али и других бактеријских обољења, најчешће се
7 користе антибиотици, а превелика употреба антибиотика и дезинфицијенаса
8 резултирала је феноменом бактеријске резистенције.

9 Као резултат наведеног јавља се потреба за новим антимикробним средствима која
10 могу да се додају у месо у циљу инхибиције патогених бактерија и микроорганизама
11 квара, а да притом представљају природну алтернативу коришћеним хемијским
12 адитивима и конзервансима и не доводе до појаве резистенције бактерија. Једна од
13 могућих алтернатива је употреба етарских уља која представљају ароматичне течности
14 уљане конзистенције које се различитим методама екстрахују из скоро свих делова
15 биљака. Доказано је да етарска уља, у различитом степену, имају антибактеријску
16 активност која зависи од врсте бактерије као и врсте и хемијског састава уља које се
17 користе, али и географског и климатског подручја, састава земљишта и вегетативног
18 циклуса биљке. Етарска уља имају и антиоксидативну улогу и инхибишу раст патогених,
19 али и микроорганизама квара, утичући на тај начин на квалитет и одрживост меса.

20 Паралелно са индустријом хране развија се и индустрија паковања која има за циљ
21 смањење патогена и микроорганизама квара и задовољење све већих захтева за
22 безбедношћу меса и производа од меса. Паковање хране има за циљ да задовољи
23 потребе потрошача за практичношћу и економичношћу, али и да спречи развој
24 патогених микроорганизама и микроорганизама квара, спречи дехидрацију, липидну
25 оксидацију, губитак ароме и друге непожељне промене, чувајући на тај начин сензорне
26 особине, продужавајући одрживост производа и чинећи производ безбеднијим за
27 потрошаче. Месо и производи од меса најчешће се пакују у вакуум и модификовану
28 атмосферу (modified atmosphere packaging -MAP) који утичу на очување квалитета и
29 раст многих микроорганизама који могу бити потенцијални проузроковачи
30 алиментарних инфекција укључујући и *Salmonella* spp.

31
32 Поглавље **Преглед литературе** написано је на основу библиографских података (561
33 референца) и подељено у четири основна подпоглавља (*Salmonella* spp.-
34 карактеристике, путеви контаминације, учесталост налаза у храни; Свињско месо-
35 производња и значај у исхрани људи, квар; Паковање меса и производа од меса-
36 вакуум, MAP; Етарска уља- особине, значај, примена).

37
38 **Циљ** истраживања у оквиру ове докторске дисертације био је везан за испитивање
39 различитих начина паковања (вакуум и модификована атмосфера) и антимикробног
40 ефекта различитих концентрација етарских уља органа и тимијана, на *Salmonella* spp.
41 и микробиолошки статус меса (*Enterobacteriaceae*, аеробне мезофилне бактерије,
42 бактерије млечне киселине), као и испитивање антиоксидативних особина поменутих
43 етарских уља и њиховог ефекта на оксидативне промене липидне фракције, физичко
44 хемијске особине и прихватљивост млевеног свињског меса.

45
46 Сходно циљу испитивања постављани су **Задаци**:

- 47
48 1. Испитивање хемијског састава етарских уља органа и тимијана;
- 49 2. Одређивање антиоксидантне активности етарског уља органа и етарског уља
50 тимијана;
- 51 3. Одређивање антимикробне активности етарских уља органа и тимијана на
52 *Salmonella* spp;
- 53 4. Праћење промена у броју бактерија *Salmonella* spp, у експериментално
54 контаминираним узорцима млевеног меса пакованог у вакуум и модификовану
55 атмосферу (30% O₂/50% CO₂/ 20% N₂), са и без додавања етарских уља током
56 петнаестодневног складиштења (нултог, трећег, шестог, деветог, дванаестог и
57 петнаестог дана) при температури од 3±1 °C;
- 58 5. Праћење микробиолошког статуса млевеног меса у узорцима пакованих у вакуум и
59 модификовану атмосферу (30% O₂/50% CO₂/ 20% N₂), са и без додавања етарских уља

1 током петнаестодневног складиштења (нултог, трећег, шестог, деветог, дванаестог и
2 петнаестог дана) при температури од 3 ± 1 °C и то:

- 3 • укупног броја аеробних мезофилних бактерија
- 4 • укупног броја ентеробактерија
- 5 • укупног броја бактерија млечне киселине

6 6. Испитивање садржаја воде, масти, протеина, пепела у млевеном свињском месу;

7 7. Испитивање pH вредности узорака током петнаест дана складиштења на
8 температури при 3 ± 1 °C (нултог, трећег, шестог, деветог, дванаестог и петнаестог дана)
9 у узорцима млевеног мяса пакованог у вакуум и модификовану атмосферу (30% O₂/50%
10 CO₂/ 20% N₂), са и без додавања етарских уља;

11 8. Праћење вредности укупно испарљивог азота током петнаест дана складиштења на
12 температури при 3 ± 1 °C (нултог, трећег, шестог, деветог, дванаестог и петнаестог дана)
13 у узорцима млевеног мяса пакованог у вакуум и модификовану атмосферу (30%
14 O₂/50% CO₂/ 20% N₂) са и без додавања етарских уља;

15 9. Промене на мастима млевеног мяса (киселински број, садржај малондиалдехида-
16 MDA) током петнаест дана складиштења при температури при 3 ± 1 °C (нултог, трећег,
17 шестог, деветог, дванаестог и петнаестог дана) у узорцима млевеног мяса пакованог у
18 вакуум и модификовану атмосферу (30% O₂/50% CO₂/ 20% N₂), са и без додавања
19 етарских уља;

20 10. Праћење састава атмосфере унутар паковања млевеног мяса у модификованој
21 атмосфери, током петнаест дана складиштења при температури од 3 ± 1 °C (нултог,
22 трећег, шестог, деветог, дванаестог и петнаестог дана);

23 11. Праћење промена сензорних особина (мириса и боје сировог млевеног мяса) током
24 петнаест дана складиштења при температури од 3 ± 1 °C (нултог, трећег, шестог,
25 деветог, дванаестог и петнаестог дана) у узорцима пакованих у вакуум и
26 модификовану атмосферу (30% O₂/50% CO₂/ 20% N₂), са и без додавања етарских уља.

27
28 У четвртном поглављу детаљно су описани **Материјал и методе истраживања**.

30 Хемијска анализа етарских уља

31 **Квалитативна и семиквантитативна хемијска карактеризација етарских уља**
32 извршена је применом гасне хроматографије купловане са масеноспектрометријском
33 детекцијом (GC-MS) (Agilent Technologies series 6890 гасни хроматограф). Подаци су
34 обрађени помоћу Agilent Technologies MSD ChemStation softver-a (ревизија E01.01.335) у
35 комбинацији са AMDIS (ver. 2.64) и NIST MS Search softver-ом (ver. 2.0d). AMDIS је
36 коришћен за деконволуцију масених спектра коелуирајућих једињења, а NIST MS
37 Search је обезбедио алгоритам за библиотечку претрагу комплементаран PBM
38 алгоритму ChemStation-a. За идентификацију масених спектра коришћене су
39 спектралне библиотеке Wiley Registry of Mass Spectral Data 7th Edition и NIST/EPA/NIH
40 Mass Spectral Library 05. Идентитет једињења потврђен је поређењем линеарних
41 ретенционих индекса са литературним подацима.

42 За анализу одабраних етарских уља коришћени су тестови за **одређивање**
43 **антиоксидантног потенцијала** засновани на трансферу електрона (нпр. 2,2-difenil-1
44 pikrilhidrazil - DPPH тест, Ferric Reducing Antioxidant Power Assay - FRAP тест),
45 способности „хватања“ слободних радикала (•OH и NO• радикал) и инхибицији липидне
46 пероксидације (LP). Сви наведени тестови урађени су у микротитар плочама, а за
47 спектрофотометријска мерења коришћен је читач плоча (Multiscan Spectrum, Thermo
48 Scientific). Испитивани узорци (етарска уља) су за потребе анализа растварани у
49 етанолу. Интервали концентрација коришћени у различитим тестовима износили су:
50 1,56-180 µL/mL (етарско уље/етанол; DPPH тест); 5,2-330 µL/mL (NO•); 0,16-10 µL/mL
51 (LP); 7,8-500 µL/mL (•OH); 2,5-10 µL/mL (FRAP тест). За одређивање способности
52 неутрализације DPPH радикала испитиваних етарских уља, коришћена је
53 спектрофотометријска метода по Espin-у (2000). Инхибиција NO• радикала одређивана
54 је спектрофотометријски, мерењем смањења продукције диазокомплекса (ружичасто
55 обојеног) који настаје у реакцији нитрита и Grissov-ог реагенса (Green и сар., 1982). У
56 циљу одређивања капацитета неутрализације OH• радикала, примењена је
57 модификована метода по Gutteridge-у (1987). Одређивање способности испитиваних
58 екстраката да инхибирају липидну пероксидацију одређено је TBA методом (Miller и
59 Aust, 1989). FRAP тест је рађен по методи Benzie и сар. (1996).

Одређивање минималне инхибиторне концентрације

За испитивање осетљивости бактеријских сојева на етарска уља коришћена је метода микродилуције на микротитрационим плочама са „U“ дном (CLSI 2009, CLSI 1999). Као позитивна контрола коришћен је комерцијални антибиотик амикацин (Sigma-Aldrich, Sent Louis, USA) у концентрацијама од 64 до 0,03 µg/ml. Као негативна контрола засејане су плоче без етарских уља и активних компоненти.

Микробиолошке методе:

1. Одређивање присуства *Salmonella* spp. према SRPS EN ISO 6579: 2008 Микробиологија хране и хране за животиње - Хоризонтална метода за откривање *Salmonella* spp. Број *Salmonella* spp. одређиван је према препоруци Pathania и сар. (2010). За одређивање броја *Salmonella* spp. коришћен је Xylose Lysine Tergitol 4 агар (XLT4) (Oxoid, UK).

2. Укупан број бактерија из фамилије *Enterobacteriaceae* одређен је према SRPS ISO 21528- 2: 2009 Микробиологија хране и хране за животиње - Хоризонтална метода за откривање и одређивање броја *Enterobacteriaceae* - Део 2: Метода бројања колонија

3. Укупан број аеробних мезофилних бактерија према SRPS EN ISO 4833:2008 Микробиологија хране и хране за животиње - Хоризонтална метода за одређивање броја микроорганизама - Техника бројања колонија на 30° C

4. Број бактерија млечне киселине одређен је применом SRPS EN ISO 4833:2008

Хемијска и физичко-хемијска испитивања:

1. За испитивање основног хемијског састава (садржај воде, масти, протеина и пепела) коришћени су следећи поступци:

Воде – одређивањем губитка масе при сушењу хомогенизованог узорка при 105±1 °C до константне масе (SRPS ISO 1442:1998)

Масти – методом по Soxhlet-у, екстракцијом масти из осушеног узорка петрол етром, дестилацијом и сушењем при 105±1 °C до константне масе (SRPS ISO 1444: 1998)

Протеина - методом по Kjeldahl-у применом уређаја произвођача Tecator (SRPS ISO 937: 1992)

Пепела – сагоревањем узорка при 550 °C до константне масе (SRPS ISO 936:1999)

2. Вредност рН узорака млевеног меса мерена је директно, убудним рН-метром Testo 250 (Testo, Немачка), према упутству произвођача

3. За одређивање количине укупног испарљивог азота коришћена је реакција титрације са хидрохлорном киселином уз присуство 3% борне киселине и индикатора метил црвеног и метил плавог (Goulash и Kontominas, 2005), Food Chemistry, 93,3,511-520

4. Киселински број је одређен према методи SRPS EN ISO 660/2011

5. Одређивање TBARS вредности-TBARS-вредност (Thiobarbituric Acid Reactive Substances, тест са тиобарбитурном киселином којом се одређује садржај малондиалдехида - MDA) одређена је према комбинованој методи Tarladgis и сар. (1964) и Holland (1971).

6. Праћење састава атмосфере унутар паковања млевеног меса-Мерење састава гасних смеша у паковањима свежег меса вршено је уређајем за испитивање гасног састава, OXYBABY, производње WITT GASESTECHNIK – Немачка. За калибрацију су коришћени аналитички гасови, високог степена чистоће, производње MESSER – TENNOGAS, Београд – Србија.

Сензорна оцена узорака сировог свињског млевеног меса:

Квантитативна дескриптивна анализа – ISO 6564:1985 (оцене прихватљивости мириса и боје на структурној скали са десет тачака и десет оцењивача).

Статистичка анализа података

Сва испитивања укључивала су довољан број понављања за статистичку обраду података. Као основне статистичке методе коришћени су дескриптивни статистички параметри. Дескриптивни статистички параметри, аритметичка средина, стандардна девијација, стандардна грешка, минимална вредност, максимална вредност и коефицијент варијације, омогућавају описивање експерименталних резултата и њихово тумачење. За тестирање и утврђивање статистички значајних разлика између испитиваних група коришћена су два теста. За испитивање значајности разлика између средњих вредности две испитиване групе је коришћен t-тест. За испитивање сигнификантних разлика између три и више посматраних третмана коришћен је групни тест, ANOVA, а затим појединачним Tukey тестом за испитање статистички значајне разлике између третмана. Сигнификантна разлика је утврђена на нивоима значајности од 5% и 1%. Сви добијени резултати су приказани табеларно и графички. Статистичка

анализа добијених резултата је урађена у статистичком пакету PrismaPad 5.00 (GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com).

Резултати испитивања (пето поглавље) приказани су, према задацима, у 11 основних подпоглавља.

У првом подпоглављу Резултата испитивања приказани су испитивања хемијског састава етарких уља оригана и тимијана. Хемијском карактеризацијом етарског уља листа оригана применом гасне хроматографије са масеним детектором утврђено је присуство укупно 16 различитих компоненти које чине 100% укупног састава етарског уља. Добијени резултати показују да је најзаступљеније једињење карвакрол, који чини 77,16% укупног састава етарског уља. Након карвакрола највећи удео у хемијском саставу имају р-цимен (5,14%), trans- β - кариофилен (2,45%), линалол (2,44%), γ -терпинен (2,35) и тимол (2,11%), док је заступљеност осталих хемијских једињења испод 2%. Хемијском карактеризацијом етарског уља листа тимијана применом гасне хроматографије са масеним детектором утврђено је присуство укупно 16 различитих компоненти које чине 100% укупног састава етарског уља. Добијени резултати показују да највећи проценат етарског уља тимијана чине оксидовани монотерпени, од којих тимол чини доминантну компоненту и 50,48% укупног састава етарског уља, затим 1,8-цинеол (4,35%), γ -терпинен (4,14%), линалол (4,69%), карвакрол (1,18%), док су борнеол, 4-d терпинеол и α -терпинеол заступљени у нижим концентрацијама. р-супен је најзаступљенији монотерпенски угљоводоник (24,79%) и друга по заступљености компонента етарског уља тимијана. Остали монотерпенски угљоводоници су α -пинен, камфен, β -мирцен, α -терпинен и лимонен. Trans β - кариофилен је једини заступљени сесквитерпенски угљоводоник, а кариофилен-оксид једини оксидовани сесквитерпен у испитиваном етарском уљу тимијана.

У другом подпоглављу за анализу етарских уља тимијана и оригана коришћени су тестови за одређивање антиоксидантног потенцијала засновани на трансферу електрона (DPPH тест и FRAP тест). Способности „хватања“ слободних радикала ($\bullet\text{OH}$ и $\text{NO}\bullet$ радикал) и инхибицији липидне пероксидације (LP). Испитивана етарска уља постижу неутрализацију 50% DPPH $\bullet$ радикала при концентрацијама од 0,33 $\mu\text{L/mL}$ (*O. vulgare*) до 0,48 $\mu\text{L/mL}$ (*T. vulgaris*). Етарско уље оригана показало је бољу активност и у погледу „хватања“ $\text{NO}\bullet$ радикала и IC_{50} вредност овог етарског уља износила је 1,15 $\mu\text{L/mL}$. Док је за етарско уље тимијана била 1,44 $\mu\text{L/mL}$. При неутрализацији $\bullet\text{OH}$ радикала етарска уља тимијана и оригана нису постигли IC_{50} вредност у испитиваном опсегу концентрација. Етарско уље тимијана показало је бољу активност при инхибицији липидне пероксидације од етарског уља оригана. Одређене IC_{50} вредности износи 8,5 nL/mL за етарско уље тимијана и 14,3 nL/mL за етарско уље оригана. Резултати FRAP теста показују да је активност етарског уља тимијана износи 135,4 mg екв аскорбинске киселине/ mL и да је већа од активности етарског уља оригана које износи 103,5 mg екв аскорбинске киселине/ mL .

Треће подпоглавље односи се на одређивање антимикробне активности етарских уља оригана и тимијана на *Salmonella* spp. Етарско уље оригана је показало добру антимикробну активност, инхибирајући раст тестираних *Salmonella* са MIC вредностима у опсегу 160-320 $\mu\text{g/mL}$. Најосетљивија на дејство етарског уља оригана била је *Salmonella* Typhimurium, док су остале испитиване бактерије из овог рода биле једнако осетљиве. Етарско уље тимијана показало је нешто слабију антимикробну активност у односу на етарско уље оригана. За инхибицију *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium* било је неопходно 320 $\mu\text{g/mL}$ етарског уља тимијана, док је за инхибицију *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. Infantis*, *S. Give* и спајка одабраних *Salmonella* било неопходно 640 $\mu\text{g/mL}$. Од активних компоненти најбољу антимикробну активност паказали су тимол и карвакрол и за инхибицију *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. Infantis*, *S. Give* и спајка одабраних *Salmonella* spp било неопходно 320 $\mu\text{g/mL}$. *S. Enteritidis* била је осетљивија на дејство тимола и била је неопходно 160 $\mu\text{g/mL}$ тимола за инхибицију ове бактерије, док је за исти ефекат било неопходно 320 $\mu\text{g/mL}$ карвакрола. За инхибицију *S. Typhimurium*, *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. Infantis*, *S. Give* и спајк одабраних *Salmonella* spp било је неопходно 640 $\mu\text{g/mL}$ цинамалдехида, док је *S. Enteritidis* била осетљивија на дејство ове активне компоненте и за инхибицију овог сероваријетета било је потребно 320 $\mu\text{g/mL}$. Међу испитиваним екстрактима и активним компонентама, еугенол је испољио најслабију антимикробну активност. Најосетљивије на дејство еугенола биле су *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium* и MIC вредност за ове сероваријетете била је 640 $\mu\text{g/mL}$, док је за инхибицију осталих испитиваних салмонела као и спајка било потребно 1280 $\mu\text{g/mL}$

1 еугенола. *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. Infantis* и *S. Give* показале су једнаку
2 осетљивост према испитаваним етарским уљима и активним компонентама. На дејство
3 амикацина најосетљивија била је *S. Enteritidis* за чију инхибицију је било потребно 0,125
4 µg/ml ове антимикуробне супстанце. *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Montevideo* и *S. Give*
5 показале су исту осетљивост према инхибиторном дејству амикацина (0,25 µg/ml), док
6 је најотпорнија била *S. Senftenberg* за чију инхибицију је било потребно 1 µg/ml
7 амикацина.

8 Праћење промена у броју бактерија *Salmonella* spp. у експериментално
9 контаминираним узорцима млевеног мяса пакованог у вакуум и модификовану
10 атмосферу (MAP) (30% O₂/50% CO₂/ 20% N₂), са и без додавања етарских уља током
11 петнаестодневног складиштења (нултог, трећег, шестог, деветог, дванаестог и
12 петнаестог дана) при температури од 3±1 °C приказано је у **четвртном подпоглављу**.
13 Просечан број бактерија *Salmonella* spp. у експериментално контаминираним узорцима
14 млевеног мяса пакованог у MAP, односно вакуум био је нултог дана испитивања од
15 6,16±0,03 log CFU/g (узорци упаковани у MAP са додатком 0,9% етарског уља тимијана-
16 ЕУТ) до 6,22±0,01 log CFU/g (узорци упаковани у MAP без додатка ЕУТ). У току
17 петнаестодневног складиштења просечан број бактерија *Salmonella* spp. се у свим
18 узорцима млевеног мяса смањивао и био је 15. дана најмањи у узорцима млевеног
19 мяса са додатком 0,9% ЕУТ пакован у MAP (2,11±0,12 log CFU/g), односно у узорцима
20 са 0,9% ЕУТ пакованим у вакуум (2,32±0,21 log CFU/g), а највећи у узорцима пакованим
21 у вакуум без додатка ЕУТ (5,14±0,07 log CFU/g), односно узорцима пакованим у MAP
22 без додатка ЕУТ (4,88±0,13 log CFU/g). Свих дана испитивања између просечног броја
23 бактерија *Salmonella* spp. у већини случајева поређења између појединих група узорака
24 млевеног мяса пакованог у вакуум, односно у MAP са и без додатог ЕУТ утврђене су
25 статистички значајне разлике (p<0,05; p<0,01). Слични резултати добијени су при
26 испитивању етарског уља оригана (ЕУО) на раст бактерија *Salmonella* spp. у узорцима
27 млевеног мяса пакованог у MAP односно вакуум, са том разликом што 12. дана у
28 узорцима млевеног мяса пакованог у MAP са додатком 0,9% ЕУО, а 15. дана у
29 узорцима пакованих у вакуум са додатком исте количине ЕУО није доказано присуство
30 бактерија *Salmonella* spp.

31 У **петом подпоглављу** приказан је микробиолошки статус млевеног мяса у узорцима
32 пакованих у вакуум и модификовану атмосферу (30% O₂/50% CO₂/ 20% N₂), са и без
33 додавања етарских уља током петнаестодневног складиштења (нултог, трећег, шестог,
34 деветог, дванаестог и петнаестог дана) при температури од 3±1 °C и то: укупног броја
35 ентеробактерија; укупног броја аеробних мезофилних бактерија (АМБ) и укупног броја
36 бактерија млечне киселине (БМК). Просечан број **ентеробактерија** у узорцима
37 млевеног мяса **неконтаминираних** салмонелама, са и без додатог **ЕУТ**, био је нултог
38 дана испитивања од 4,21±0,02 log CFU/g (узорци паковани у вакуум са додатком 0,9%
39 ЕУТ) до 5,02±0,04 log CFU/g (узорци паковани у вакуум без додатка ЕУТ). После 15
40 дана складиштења дошло је до незнатног пораста броја ентеробактерија (за мање од 1
41 log CFU/g), изузев код узорака млевеног мяса који су боили паковани у MAP са
42 додатком 0,9% ЕУТ, где је просечан број ентеробактерија смањен са 4,23±0,03 log
43 CFU/g (нулти дан) до 4,11±0,11 log CFU/g (15. дан). Свих дана испитивања, у већини
44 случајева поређења статистички значајно мањи (p<0,05; p<0,01) просечан број
45 ентеробактерија утврђен је у узорцима млевеног мяса пакованог у MAP у односу на
46 узорке млевеног мяса пакованог у вакуум (са и без додатог ЕУТ). Утврђено је, такође,
47 да је у већини случајева поређења статистички значајно мањи (p<0,05; p<0,01)
48 просечан број ентеробактерија био у узорцима млевеног мяса са већом количином
49 додатог ЕУТ. У **контаминираним** узорцима млевеног мяса (контаминирани са
50 салмонелама) нултог дана испитивања, просечан број ентеробактерија био је од
51 6,05±0,05 log CFU/g (узорци паковани у вакуум са додатком 0,9% ЕУТ) до 6,31±0,03 log
52 CFU/g (узорци паковани у вакуум без додатка ЕУТ). После петнаестодневног
53 складиштења, просечан број ентеробактерија само у узорцима пакованим у MAP,
54 односно вакуум са додатком 0,9% ЕУТ, није се статистички значајно променио, док је у
55 осталим узорцима млевеног мяса био статистички значајно већи (p<0,05; p<0,01), при
56 чему повећање просечног броја ентеробактерија није било веће од 1 log CFU/g.

57 У **неконтаминираним** узорцима млевеног мяса пакованог у MAP и вакуум, са и без
58 додатка **ЕУО**, нултог дана испитивања просечан број **ентеробактерија** био је од
59 3,63±0,02 log CFU/g (узорци паковани у MAP, односно вакуум са додатком 0,9% ЕУО) до
60 3,97±0,05 log CFU/g (узорци паковани у вакуум без додатка ЕУО). Петнаестог дана

испитивања просечан број ентеробактерија, само у узорцима пакованим у MAP са додатком 0,9% ЕУО био је статистички значајно мањи ($p < 0,05$) у орносу на нулти дан. У свим осталим случајевима просечан број ентеробактерија био је статистички значајно већи ($p < 0,05$; $p < 0,01$) у односу на нулти дан, али не већи од 1 log CFU/g. Просечан број ентеробактерија у млевеном месу у **контаминираним** узорцима (контаминирани са салмонелама) пакованим у MAP и вакуум, са и без додатог ЕУО био је нултог дана $6,04 \pm 0,06$ log CFU/g (узорци паковани у MAP, односно вакуум са додатком 0,9% ЕУО) до $6,42 \pm 0,43$ log CFU/g (узорци паковани у MAP без додатка ЕУО). Просечан број ентеробактерија у узорцима млевеног мяса без додатог ЕУО пакованих у MAP, односно вакуум, био је статистички значајно већи ($p < 0,05$; $p < 0,01$) 15. дана од просечног броја ентеробактерија у истим узорцима нултог дана испитивања. Није утврђена статистички значајна разлика између просечног броја ентеробактерија у узорцима млевеног мяса пакованим у MAP са додатком 0,3% ЕУО нултог ($6,26 \pm 0,06$ log CFU/g) и 15. дана ($6,20 \pm 0,04$ log CFU/g), као и узорака млевеног мяса пакованих у вакуум са додатком 0,3% ЕУО нултог ($6,37 \pm 0,06$ log CFU/g) и 15. дана ($6,36 \pm 0,04$ log CFU/g). Просечан број ентеробактерија у узорцима млевеног мяса пакованог у MAP, односно вакуум са додатком 0,3%, односно 0,9% ЕУО, био је 15. дана испитивања статистички значајно мањи ($p < 0,05$; $p < 0,01$) у односу на нулти дан. Просечан број ентеробактерија 15. дана испитивања био је од $5,44 \pm 0,04$ log CFU/g (узорци паковани у MAP са додатком 0,9% ЕУО) до $7,18 \pm 0,18$ log CFU/g (узорци паковани у вакуум без додатка ЕУО). У свим даним испитивања између просечних вредности ентеробактерија поређених група узорака млевеног мяса у већини случајева поређења утврђена је статистички значајна разлика ($p < 0,01$). Утврђено је, такође, да је просечан број ентеробактерија у већини случајева поређења био статистички значајно већи ($p < 0,05$; $p < 0,01$) у узорцима пакованим у вакуум у односу на узорке паковане у MAP.

Део овог подпоглавља односи се на испитивање **просечног броја аеробних мезофилних бактерија** (АМБ). Просечан број АМБ у узорцима млевеног мяса пакованог у MAP, односно вакуум (**неконтаминирани** салмонелама), са и без додатог ЕУТ био је $5,17 \pm 0,02$ log CFU/g (узорци паковани у MAP, односно вакуум са додатком 0,9% ЕУТ) до $5,21 \pm 0,01$ log CFU/g (узорци паковани у MAP, односно вакуум без додатог ЕУТ). У току складиштења просечан број АМБ у свим испитиваним узорцима млевеног мяса растао је до 15. дана, када је био од $6,19 \pm 0,09$ log CFU/g (вакуум са додатком 0,9%) до $8,03 \pm 0,11$ log CFU/g (вакуум без додатог ЕУТ). Статистички значајно већи ($p < 0,01$) пораст броја АМБ забележен је код свих испитиваних група узорака, али је најизраженији био код узорака млевеног мяса пакованих у MAP, односно вакуум без додатка ЕУТ (за више од 2 log CFU/g), а код узорака пакованих у MAP, односно вакуум са додатком 0,3%, односно 0,9% ЕУТ за више од 1 log CFU/g. Код узорака пакованих у MAP, односно вакуум са додатком 0,9% ЕУТ просечан пораст АМБ био је мањи од 1 log CFU/g. Просечан број АМБ **контаминираних** узорака (контаминирани салмонелама) млевеног мяса био је нултог дана испитивања од $6,55 \pm 0,41$ log CFU/g (узорци паковани у MAP са додатком 0,3% ЕУТ) до $6,82 \pm 0,05$ log CFU/g (узорци паковани у MAP, односно вакуум без додатог ЕУТ). После 15 дана складиштења просечан број АМБ у узорцима млевеног мяса био је од $6,88 \pm 0,11$ log CFU/g (узорци паковани у вакуум са додатком 0,9% ЕУТ) до $9,00 \pm 0,03$ log CFU/g (узорци паковани у вакуум без додатог ЕУТ). Између просечних вредности укупног броја АМБ пакованих у MAP, односно вакуум са додатком 0,9% ЕУТ 15. дана нису утврђене статистички значајне разлике ($6,57 \pm 0,07$ log CFU/g нулти дан и $6,89 \pm 0,05$ log CFU/g 15. дан- MAP, односно $6,88 \pm 0,11$ log CFU/g 15. дан-вакуум). Код осталих група узорака млевеног мяса разлике између просечног броја АМБ нултог и 15. дана биле су статистички значајне ($p < 0,01$), односно просечан број АМБ код узорака са додатком ЕУТ био је већи за 1 log CFU/g, а узорака без додатог ЕУТ за 2 log CFU/g.

И код неконтаминираних и код контаминираних узорака млевеног мяса са и без додатог ЕУТ у већини случајева поређења истог дана испитивања утврђене су статистички значајне разлике ($p < 0,05$; $p < 0,01$) између просечних вредности броја АМБ. Утврђено је, такође, да су просечне вредности АМБ броја у већини случајева поређења биле статистички значајно мање ($p < 0,05$; $p < 0,01$) у узорцима млевеног мяса пакованих у MAP, у односу на узорке паковане у вакуум.

Испитивањем **неконтаминираних** узорака са и без додатог ЕУО утврђено је да је просечна вредност броја АМБ била нултог дана од $4,24 \pm 0,03$ log CFU/g (узорци паковани у MAP, односно вакуум са додатком 0,9% ЕУО) до $4,29 \pm 0,02$ log CFU/g (узорци

паковани у MAP, односно вакуум без додатог ЕУО). Просечан број АМБ растао је у току складиштења млевеног мяса и 15. дана био статистички значајно већи ($p<0,05$; $p<0,01$) код свих група испитиваних узорака у односу на нулти дан. Најмањи просечан број АМБ 15. дана утврђен је у групи узорака пакованих у MAP са додатком 0,9% ЕУО ($4,78\pm0,05 \log \text{ CFU/g}$), а највећи код узорака млевеног мяса пакованих у вакуум без додатка ЕУО ($7,37\pm0,13 \log \text{ CFU/g}$), а затим код узорака пакованих у MAP без додатког ЕУО ($6,95\pm0,21 \log \text{ CFU/g}$). У већини случајева поређења истог дана испитивања између просечних вредности АМБ утврђене су статистички значајне разлике ($p<0,05$; $p<0,01$). У поређењу са нултим даном, 15. дана испитивања просечан број АМБ био је, осим у узорцима млевеног мяса пакованих у MAP са додатком 0,9% ЕУО већи за 1 до 3 $\log \text{ CFU/g}$.

Нултог дана испитивања у узорцима млевеног мяса **конатаминираних** са *Salmonella* spp. врста просечан број АМБ био је од $6,67\pm0,03 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у вакуум са додатком 0,9% ЕУО) до $7,00\pm0,07 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у вакуум без додатог ЕУО). На крају складиштења 15. дана испитивања, у узорцима млевеног мяса просечан број АМБ био је од $6,20\pm0,05 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у MAP са додатком 0,9% ЕУО) до $9,21\pm0,11 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у вакуум без додатог ЕУО). Просечан број АМБ био је 15. дана статистички значајно већи ($p<0,01$) у односу на нулти дан код узорака пакованих у MAP, односно вакуум без додатог ЕУО, а исто је утврђено и код узорака пакованих у вакуум са додатком 0,3% ЕУО. Код узорака пакованих у MAP, односно вакуум са додатком 0,6%, односно 0,9% ЕУО просечан број АМБ био је 15. дана статистички значајно мањи ($p<0,01$) у односу на нулти дан, а код узорака пакованих у MAP са додатком 0,3% ЕУО није се статистички значајно променио.

Код групе неконтаминираних, као и код групе контаминираних (салмонелама) узорака млевеног мяса са и без додатог ЕУО запажено је да су свих дана испитивања између просечних вредности АМБ поређених група узорака млевеног мяса утврђене у већини случајева поређења статистички значајне разлике ($p<0,05$; $p<0,01$), као и да је просечан АМБ свих дана поређења био статистички значајно мањи ($p<0,01$) код узорака пакованих у MAP у односу на узорке паковане у вакуум.

Од микробиолошких анализа испитивана је и промена броја **бактерија млечне киселине** (БМК) у контаминираним и неконтаминираним узорцима млевеног мяса, пакованим у MAP, односно вакуум, са и без додатог ЕУТ. Нултог дана испитивања просечна вредност броја БМК у **неконтаминираним** узорцима била је од $4,14\pm0,03 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у MAP, односно вакуум са додатком 0,9% ЕУТ) до $4,40\pm0,03 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у вакуум без додатог ЕУТ). У току складиштења број БМК је растао и 15. дана био у свим случајевима поређења статистички значајно већи ($p<0,01$) од просечног броја БМК нултог дана испитивања. На крају складиштења 15. дана испитивања просечан број БМК био је од $4,98\pm0,08 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у MAP са додатком 0,9% ЕУТ) до $7,00\pm0,09 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у вакуум без додатог ЕУТ). Просечан број БМК у **контаминираним** (салмонелама) узорцима млевеног мяса са и без додатог ЕУТ пакованих у MAP, односно вакуум просечан број БМК био је нултог дана од $4,20\pm0,10 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у вакуум са додатком 0,9% ЕУТ) до $4,62\pm0,10 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у вакуум без додатог ЕУТ). У току складиштења број БМК је растао и 15. дана просечан број БМК био је од $6,41\pm0,14 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у MAP са додатком 0,9% ЕУТ) до $7,37\pm0,13 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у вакуум без додатог ЕУТ). Разлике између просечних бројева БМК испитиваних група узорака млевеног мяса нултог и 15. дана биле су статистички значајне ($p<0,01$). Код обе групе узорака млевеног мяса контаминираних и неконтаминираних (салмонелама) истих дана испитивања утврђене су у већини случајева поређења статистички значајне разлике ($p<0,05$; $p<0,01$). Запажено је да је пораст просечног броја БМК, такође, у већини случајева поређења био статистички значајно мањи ($p<0,01$) у узорцима пакованих у MAP у односу на узорке паковане у вакуум. Повећање просечног броја БМК у току складиштења било је израженије код контаминираних група узорака млевеног мяса (15. дана од 2 до 3 $\log \text{ CFU/g}$) у односн на неконтаминираних узорке, где је повећање било 15. дана од 0,5 до 2,5 $\log \text{ CFU/g}$.

Просечан број БМК **неконтаминираних** узорака млевеног мяса са и без додатог ЕУО пакованих у MAP, односно вакуум био је од $4,13\pm0,01 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у MAP са додатком 0,9% ЕУО) до $4,26\pm0,02 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у MAP без додатог ЕУО). После 15. дана складиштења просечан број БМК у узорцима млевеног мяса био је од $4,24\pm0,07 \log \text{ CFU/g}$ (узорци паковани у MAP са додатком 0,9% ЕУО) до $5,67\pm0,14$

log CFU/g (узорци паковани у MAP без додатог ЕУО). Код **контаминираних** (салмонелама) узорака млевеног меса, са и без додатог ЕУО, а пакованих у MAP, односно вакуум нултог дана испитивања просечан био је од од $4,20 \pm 0,06$ log CFU/g (узорци паковани у MAP са додатком 0,9% ЕУО) до $4,45 \pm 0,12$ log CFU/g (узорци паковани у вакуум без додатог ЕУО), да би 15. дана складиштења просечан број БМК био од $5,92 \pm 0,15$ log CFU/g (узорци паковани у MAP са додатком 0,9% ЕУО) до $7,26 \pm 0,117$ log CFU/g (узорци паковани у вакуум без додатог ЕУО). Свих дана испитивања и код једне и код друге групе узорака (неконтаминираних и контаминираних салмонелама) у већини случајева поређња између просечних вредности броја БМК испитиваних група узорака млевеног меса утврђене су статистички значајне разлике ($p < 0,05$; $p < 0,01$). Учесталост статистички значајних разлика између узорака млевеног меса пакованих у MAP, односно вакуум, са и без додатка ЕУО била је мање изражена код контаминираних у односу на неконтаминираних узорке млевеног меса. Код неконтаминираних узорака млевеног меса 15. дана испитивања просечан број БМК у односу на нулти дан био је већи за 0,5 до 2 log CFU/g, а код контаминираних узорака млевеног меса од 1,5 до 2,5 log CFU/g.

Садржај воде, масти, протеина и пепела у млевеном свињском месу приказан је у **шестом подпоглављу**. Испитивањем хемијског састава утврђено је да је млевено свињско месо коришћено у првом делу огледа садржало 70,55% воде, 21,15% протеина, 7,15% масти и 1,09% пепела. Испитивањем хемијског састава утврђено је да је млевено свињско месо коришћено у другом делу огледа садржало 68,48% воде, 20,57% протеина, 10,31% масти и 1,05% пепела.

У **седмом подпоглављу** приказани су резултати **pH вредности** узорака током петнаест дана складиштења при температури од 3 ± 1 °C (нултог, трећег, шестог, деветог, дванаестог и петнаестог дана) у узорцима млевеног меса пакованог у вакуум и MAP, са и без додавања етарских уља. Просечне вредности pH млевеног меса нултог дана испитивања, без обзира на начин паковања, са и без ЕУТ, биле су уједначене (од $5,83 \pm 0,02$ log CFU/g до $5,85 \pm 0,01$ log CFU/g), али су се 3., 6. и 9. дана мењале (смањивале), па су и између појединих узорака у тим данима утврђене статистички значајне разлике ($p < 0,05$; $p < 0,01$). Разлике 12., а посебно 15. дана испитивања биле су мање изражене између поређених група узорака. Тако је 15. дана складиштења утврђена статистички значајна разлика ($p < 0,01$) између pH узорака млевеног меса пакованог у MAP без додатка ЕУТ ($5,75 \pm 0,03$) и узорака, такође пакованих у MAP са додатком 0,9% ЕУТ ($5,80 \pm 0,01$). Утврђена је и статистички значајна разлика ($p < 0,01$) између узорака пакованих у MAP са додатком 0,3% ЕУТ ($5,87 \pm 0,01$) и узорака пакованих у вакуум без додатка ЕУТ ($5,72 \pm 0,01$). Утврђено је да је просечна pH вредност млевеног меса свих испитиваних група 15. дана испитивања била статистички значајно мања ($p < 0,05$; $p < 0,01$) у односу на нулти дан испитивања.

Код узорака млевеног меса упакованих у MAP и вакуум са и без додатог ЕУО просечне pH вредности биле су нултог дана од $6,01 \pm 0,01$ до $6,06 \pm 0,01$ (разлика није статистички значајна). Већ 3. дана складиштења дошло је до пада pH вредности испитиваних група узорака млевеног меса, што је у мањем броју случајева узроковало и статистички значајне разлике ($p < 0,01$) између поређених група. Пад pH вредности настављен је и 6. дана, али између просечних вредности нису утврђене статистички значајне разлике. Са даљим падом pH вредности (9., 12, односно 15. дан) учесталост разлика између просечних вредности pH била је све већа. На крају 15. дана испитивања просечне pH вредности биле су од $5,76 \pm 0,05$ (вакуум без ЕУО) до $5,93 \pm 0,01$ (MAP са додатком 0,9% ЕУО). У односу на нулти дан pH вредности узорака млевеног меса 15. дана биле су статистички значајно мање ($p < 0,01$).

У **осмом подпоглављу** приказане су вредности садржаја **укупног испарљивог азота** (TVN-Total Volatile Nitrogen) током петнаест дана складиштења на температури од 3 ± 1 °C (нултог, трећег, шестог, деветог, дванаестог и петнаестог дана) у узорцима неконтаминираних млевеног меса пакованог у вакуум и MAP, са и без додавања етарских уља. Просечан садржај TVN mg N/100g био је код узорака млевеног меса пакованих у MAP и вакуум са и без додатог ЕУТ нултог дана уједначен (од $10,94 \pm 0,25$ mg N/100g до $11,45 \pm 0,32$ mgN/100g). Садржај TVN растао је код свих група узорака млевеног меса и 15. дана складиштења био је највећи код узорака пакованих у вакуум без додатка ЕУТ ($34,06 \pm 0,83$ mgN/100g), а затим код узорака млевеног меса пакованих

у MAP, такође без додатог ЕУТ ($29,14 \pm 0,61$ mgN/100g). Просечан садржај TVN био је 15. дана најмањи код узорак млевеног мяса пакованих у MAP са додатком 0,9% ЕУТ ($23,85 \pm 0,26$ mgN/100g) а затим код узорак млевеног мяса пакованих у вакуум са додатком 0,9% ЕУТ ($25,07 \pm 0,80$ mgN/100g).

Слични резултати добијени су и при испитивању узорак млевеног мяса пакованих у MAP, односно вакуум, са и без додатог ЕУО. Нултог дана испитивања просечан садржај TVN био је уједначен (од $9,28 \pm 0,03$ mg N/100g до $9,29 \pm 0,04$ mgN/100g). Пораст садржаја TVN био је најизраженији код узорак млевеног мяса пакованих у вакуум без додатка ЕУО, тако да је 15. дана износио $31,95 \pm 0,36$ mgN/100g. Просечан садржај TVN у узорцима млевеног мяса пакованих у MAP без одатка ЕУО био је 15. дана $27,87 \pm 0,16$ mgN/100g. Најмањи просечан садржај TVN и овде је утврђен код узорак млевеног мяса пакованих у MAP са додатком 0,9% ЕУО ($17,31 \pm 0,48$ mgN/100g), а затим узорак, такође, пакованих MAP са додатком 0,6% ЕУО ($19,91 \pm 0,43$ mgN/100g). Просечан садржај TVN у узорцима млевеног мяса пакованих у вакуум са додатком 0,9% ЕУО био је $20,13 \pm 0,67$ mgN/100g. Испитиваних дана (3., 6., 9., 12., 15.) између просечних садржаја TVN, како узорак са и без ЕУТ, тако и узорак са и без ЕУО утврђене су у већини случајева поређења статистички значајне разлике ($p < 0,05$; $p < 0,01$).

У **деветом подпоглављу** приказане су промене на мастима млевеног мяса (киселински број, садржај малондиалдехида- MDA) током петнаест дана складиштења при температури од 3 ± 1 °C (нултог, трећег, шестог, деветог, дванаестог и петнаестог дана) у узорцима млевеног мяса пакованог у вакуум и MAP, са и без додавања етарских уља. Просечне вредности **киселинског броја** (mgKOH/g) у узорцима млевеног мяса упакованог у MAP, односно вакуум са додатком ЕУТ биле су нултог дана од $0,24 \pm 0,03$ mgKOH/g до $0,25 \pm 0,03$ mgKOH/g и нису се међусобно статистички значајно разликовале. Трећег дана складиштења у свим групама узорак, осим узорак млевеног мяса пакованих у MAP, односно вакуум са додатком 0,6%, односно 0,9% ЕУТ дошло је до статистички значајног повећања ($p < 0,05$; $p < 0,01$) просечне вредности киселинског броја. У току складиштења киселински број је растао у свим групама узорак тако да је 15. дана складиштења био од $0,41 \pm 0,03$ mgKOH/g (узорци паковани у вакуум са додатком ЕУТ) до $0,70 \pm 0,05$ mgKOH/g (узорци паковани у MAP без додатка ЕУТ). Од 3. па до 15. дана испитивања између просечних вредности киселинског броја млевеног мяса пакованог у MAP, односно вакуум, са или без додатог ЕУТ, у већини случајева поређења утврђена је статистички значајна разлика ($p < 0,05$; $p < 0,01$).

На почетку испитивања нултог дана просечне вредности киселинског броја узорак млевеног мяса пакованог у MAP, односно вакуум, са додатком ЕУО биле су од $0,68 \pm 0,04$ mgKOH/g до $0,69 \pm 0,02$ mgKOH/g и нису се међусобно статистички значајно разликовале. Трећег дана испитивања дошло је до статистички значајног смањења ($p < 0,05$; $p < 0,01$) просечних вредности киселинског броја у узорцима млевеног мяса пакованих у MAP, односно вакуум са додатком ЕУО, изузев код узорак пакованих у вакуум са додатком 0,3% ЕУО, пакованих у вакуум, односно MAP без додатка ЕУО. Од 6. па до 15. дана складиштења просечне вредности киселинског броја расле су у свим групама узорак, тако да су 15. дана складиштења биле од од $0,97 \pm 0,01$ mgKOH/g (вакуум са додатком 0,9% ЕУО) до $0,65 \pm 0,03$ mgKOH (MAP без додатка ЕУО). Између просечних вредности киселинског броја испитиваних група узорак млевеног мяса пакованих у MAP, односно вакуум са и без додатог ЕУО у већини случајева поређења, почевши од 3. дана утврђене су статистички значајне разлике ($p < 0,05$; $p < 0,01$). Просечне вредности киселинског броја узорак млевеног мяса пакованог у MAP са и без додатог ЕУТ, односно са и без додатог ЕУО, биле су статистички значајно веће ($p < 0,05$; $p < 0,01$) од просечне вредности киселинског броја узорак млевеног мяса пакованог у вакуум са и без додатог ЕУТ, односно ЕУО.

Просечан садржај **малондиалдехида- MDA** у узорцима млевеног мяса упакованог у MAP, односно вакуум, са и без додатог ЕУТ био је нултог дана од $0,11 \pm 0,01$ mg MDA/kg до $0,12 \pm 0,01$ mg MDA/kg и није се међусобно статистички значајно разликовао. Пораст садржаја MDA био је изразитији код узорак пакованих у вакуум, односно MAP, без додатог ЕУТ, као и код узорак са мањом додатом количином ЕУТ. Тако је 15. дана испитивања просечан садржај MDA у узорцима млевеног мяса пакованог у вакуум са додатком 0,9% ЕУТ био $0,13 \pm 0,01$ mgMDA/kg, а узорак млевеног мяса пакованих у вакуум без додатог ЕУТ $0,29 \pm 0,01$ mgMDA/kg. У узорцима млевеног мяса пакованих у MAP 15. дана испитивања садржај MDA био је од $0,17 \pm 0,01$ mg MDA/kg (узорци паковани у MAP са додатком 0,9% ЕУТ) до $0,65 \pm 0,03$ mg MDA/kg (узорци паковани у

MAP без додатог ЕУТ). Почевши од 3. дана до 15. дана, свих дана испитивања између просечних садржаја MDA у узорцима млевеног мяса пакованих у MAP, односно вакуум, са и без додатог ЕУТ, у већини случајева утврђене су статистички значајно разлике ($p < 0,05$; $p < 0,01$).

У узорцима млевеног мяса пакованим у MAP, односно вакуум, са и без додатог ЕУО нултог дана испитивања просечан садржај MDA био је од $0,15 \pm 0,01$ mg MDA/kg до $0,16 \pm 0,02$ mg MDA/kg (без статистички значајних разлика). Садржај MDA у узорцима млевеног мяса пакованих у вакуум са додатком 0,9% ЕУО није се статистички значајно мењао у току складиштења и 15. дана испитивања био је идентичан као и нултог дана ($0,15 \pm 0,01$ mgMDA/kg). У узорцима пакованим у вакуум без додатка ЕУО 15. дана складиштења садржај MDA био је $0,29 \pm 0,02$ mgMDA/kg. Највећи пораст садржаја MDA утврђен је у узорцима млевеног мяса пакованим у MAP без додатог ЕУО и 15. дана испитивања био је $0,75 \pm 0,08$ mgMDA/kg. Између просечних садржаја MDA, како узорака са и без ЕУТ, тако и узорака са и без ЕУО, пакованих у MAP, односно вакуум од 3. до 15. дана утврђене су у већини случајева поређења статистички значајне разлике ($p < 0,05$; $p < 0,01$). Уочено је, такође, да је просечан садржај MDA био статистички значајно већи ($p < 0,05$; $p < 0,01$) у узорцима млевеног мяса пакованим у MAP у односу на узорке паковане у вакуум.

У десетом подпоглављу приказано је праћење састава атмосфере унутар паковања млевеног мяса у MAP, током петнаест дана складиштења при температури од 3 ± 1 °C (нултог, трећег, шестог, деветог, дванаестог и петнаестог дана). На почетку складиштења концентрација гасова у паковањима MAP-а била је 30% O₂, 50% CO₂ и 20% N₂. Концентрација кисеоника у паковањима са узорцима млевеног мяса без додатог ЕУТ смањивала се и 15. дана била 16,6%. У MAP паковањима са 0,3% ЕУТ смањила се 15. дана на 24,3%. У паковањима са 0,6% ЕУТ смањила се на 28,6%, а у паковањима са 0,9% ЕУТ је остала непромењена. Концентрација CO₂ у свим паковањима опадала је до 9. дана, да би 15. дана у паковањима млевеног мяса без додатог ЕУТ била 52,4%, у паковањима MAP-а са 0,3% 42,3%, у паковањима MAP-а са 0,6% ЕУТ 37% и у паковањима са 0,9% ЕУТ 39,1%. Концентрација азота је у свим паковањима расла и била у узорцима MAP-а са млевеним месом без додатог ЕУТ 15. дана 31%, у паковањима MAP-а са 0,3% ЕУТ 33,4%, у паковањима MAP-а са 0,6% ЕУТ 34,4% и у паковањима MAP-а са 0,9% ЕУТ 34,8%. Слични резултати добијени су и код паковања млевеног мяса са и без додатог етарског уља органа.

Једанаесто подпоглавље Резултата испитивања односи се на оцене мириса и боје млевеног мяса током петнаест дана складиштења при температури од 3 ± 1 °C (нултог, трећег, шестог, деветог, дванаестог и петнаестог дана) у узорцима пакованих у вакуум и MAP (30% O₂/50% CO₂/ 20% N₂), са и без додавања етарских уља. Просечне сензорне оцене мириса узорака млевеног мяса пакованог у MAP, односно вакуум са и без додатог ЕУТ од $3,4 \pm 0,84$, за узорке паковане у вакуум са додатком 0,9% ЕУТ, односно $3,5 \pm 0,52$ за узорке паковане у MAP са додатком 0,9% ЕУТ (испод границе прихватљивости због јако израженог мириса уља) до $8,4 \pm 0,69$ (узорци упаковани у MAP, односно вакуум без додатог ЕУТ). Просечне сензорне оцене мириса узорака млевеног мяса са 0,3%, односно 0,6% ЕУТ пакованих у MAP, односно вакуум, нултог дана испитивања биле су изнад граничне вредности прихватљивости (гранична вредност=5). У току складиштења просечне сензорне оцене мириса свих група узорака млевеног мяса су се смањивале, осим узорака пакованих у MAP, односно вакуум са 0,9% ЕУТ, где се нису мењале. Петнаестог дана складиштења још увек су на граници прихватљивости били узорци паковани у MAP без додатка ЕУТ, као и узорци паковани у MAP, односно вакуум са 0,3%, односно 0,6% ЕУТ. Просечна оцена мириса узорака млевеног мяса пакованих у вакуум без додатог ЕУТ била је ($3,7 \pm 0,82$) испод границе прихватљивости. Између просечних вредности сензорне оцене прихватљивости мириса испитиваних група узорака свих дана испитивања у већини случајева поређења утврђене су статистички значајне разлике ($p < 0,05$; $p < 0,01$).

Просечне сензорне оцене боје узорака млевеног мяса пакованих у вакуум, односно MAP са додатком ЕУТ нултог дана испитивања биле су од $8,3 \pm 0,48$, до $8,7 \pm 0,50$ (нису се статистички значајно разликовале). У току складиштења просечне сензорне оцене боје су се, почевши од 6. дана, статистички значајно смањивале ($p < 0,05$; $p < 0,01$), тако да су 15. дана складиштења биле од $4,7 \pm 0,68$ (узорци паковани у вакуум без додатог ЕУТ и

испод границе прихватљивости) до $8,0 \pm 0,82$ (узорци паковани у MAP са додатком 0,3% ЕУТ). Слични резултати добијени су и при оцени прихватљивости **мириса**, односно **боје** узорака пакованих у MAP са додатком етарског уља оригана (**ЕУО**). Запажено је да су просечне сензорне оцене боје биле увек статистички значајно веће ($p < 0,05$; $p < 0,01$) код узорака млевеног мяса пакованог у MAP у односу на узорке паковане у вакуум.

У поглављу **Дискусија** кандидат критички разматра добијене резултате и пореди их са резултатима других аутора.

VI ЗАКЉУЧЦИ ИСТРАЖИВАЊА:

На основу извршених испитивања и добијених резултата закључено је следеће:

1. Хемијском анализом етарског уља оригана, односно тимијана утврђено је по 16 различитих активних компоненти, од којих је у етарском уљу оригана најзаступљенији био карвакрол (77,16%), а у етарском уљу тимијана тимол (50,48%), а затим р-супен (24,79%). Остале активне компоненте у оба испитивана етарска уља биле су мање заступљене.

2. Етарско уље оригана показало је бољу способност неутрализације DPPH• радикала и бољу активност у погледу „хватања“ HO•, док је етарско уља тимијана показало бољу активност при инхибицији липидне пероксидације од етарског уља оригана.

3. Оба етарска уља инхибирала су раст испитиваних *Salmonella* spp., при чему минималне инхибиторне концентрације нису биле исте за све сероваријетете. Етарско уље оригана је имало нижу минималну инхибиторну концентрацију од етарског уља тимијана за већину испитиваних *Salmonella* spp.

4. У свим групама експериментално контаминираних узорака млевеног мяса број *Salmonella* spp. се смањивао током испитивања и био је статистички значајно мањи код узорака пакованих у модификованој атмосфери у односу на узорке паковане у вакуум, као и код узорака са додатком већом концентрацијом етарских уља.

5. У неконтаминираним и контаминираним узорцима млевеног мяса пакованих у модификовану атмосферу и вакуум, са и без додатог етарског уља, просечан број ентеробактерија се статистички значајно смањивао да би после 6. дана складиштења дошло до статистички значајног пораста просечног броја ентеробактерија. Пораст броја ентеробактерија био је израженији код узорака пакованих у модификовану атмосферу и вакуум, без додатог етарских уља, као и узорцима млевеног мяса са додатком мањих количина етарског уља.

Промена укупног броја аеробних мезофилних бактерија, као и бактерија млечне киселине у току складиштења узорака млевеног мяса зависила је од начина паковања (модификована атмосфера или вакуум), додате количине етарског уља (оригано или тимијан) и тога да ли се радило о контаминираним или неконтаминираним узорцима млевеног мяса. Повећање укупног броја аеробних мезофилних бактерија, као и бактерија млечне киселине, било је израженије код узорака пакованих у вакуум и узорака са мањим садржајем додатог етарског уља, као и код групе контаминираних узорака у односу на аналогне узорке млевеног мяса паковане у модификованој атмосфери. На крају складиштења укупан број аеробних мезофилних бактерија, односно бактерија млечне киселине, у свим групама узорака био је статистички значајно већи у односу на нулти дан.

6. Просечне вредности садржаја воде, масти, протеина и пепела у зорцима млевеног мяса коришћеног у експерименту биле су карактеристичне за ову врсту мяса.

7. Вредност pH узорака млевеног мяса пакованих у модификовану атмосферу и вакуум, са и без додатих етарских уља се у току складиштења смањивала код свих узорака и на крају складиштења била статистички значајно мања у односу на нулти дан, а пад pH вредности био је посебно изражен у узорцима млевеног мяса без додатка етарских уља.

8. Просечан садржај укупног испарљивог азота растао је у свим узорцима пакованог млевеног мяса и на крају складиштења био статистички значајно већи у односу на нулти дан. Повећање садржаја укупног испарљивог азота било је израженије код узорака пакованих у вакуум и узорака са мањим садржајем додатих етарских уља у односу на узорке паковане у модификовану атмосферу.

9. Просечне вредности киселинског броја, као и садржаја малондиалдехида су расле у свим узорцима млевеног мяса током складиштења, а били су углавном статистички

значајно већи на крају складиштења у односу на нулти дан. Просечне вредности киселинског броја, односно просечан садржај малондиалдехида били су статистички значајно мање у узорцима млевеног мяса пакованим у вакуум, са и без додатог етарског уља, у односу на узорке млевеног мяса паковане у модификовану атмосферу са и без додатих етарских уља.

10. Промене садржаја гасова унутар паковања млевеног мяса у модификованој атмосфери зависиле су од количине додатог етарског уља. Концентрација кисеоника у узорцима без додатка етарских уља се највише смањивала током складиштења, а угљендиоксида повећала на крају периода испитивања, док је током прва три дана испитивања његова концентрација опала у свим узорцима. Концентрација азота у паковањима расла је код свих група узорака млевеног мяса пакованих у модификованој атмосфери, и на крају складиштења била уједначена код свих група узорака.

11. Просечна сензорна оцена прихватљивости мириса била је почетком испитивања статистички значајно већа код узорака без додатка етарског уља. Узорци у које су додате највише концентрације етарског уља имали су јако изражен мирис карактеристичан за додато уље. У току складиштења просечне сензорне оцене мириса мяса код свих група узорака биле су статистички значајно мање у односу на нулти дан испитивања, али су још увек биле изнад границе прихватљивости код узорака са додатим нижим концентрацијама етарског уља. Просечне сензорне оцене боје на почетку испитивања биле су уједначене, а у току складиштења су се смањивале и у појединим случајевима биле су статистички значајно мање, док су код узорака пакованих у вакуум без додатка етарских уља биле најмање прихватљиве на крају периода испитивања.

VII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА:

Добијени резултати приказани су табеларно и графички и на основу тога тумачени. Тумачење резултата дато је јасно и разумљиво.

VIII КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме?

Дисертација је у свему написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све елементе прописане за завршену докторску дисертацију?

Докторска дисертација Марије Бошковић садржи све битне елементе који се захтевају за завршену докторску дисертацију.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци?

Докторска дисертација Марије Бошковић дала је оригиналан допринос науци будући да добијени резултати у потпуности оправдавају циљ и задатке докторске дисертације и дају податке који карактеришу хемијски састав и антиоксидативне особине етарских уља оригана и тимијана, њихову антимикуробну активност према *Salmonella* spp., а затим указују на значај начина паковања (вакуум, модификована атмосфера) и количине додатих етарских уља на промене броја *Salmonella* spp. у експериментално контаминираним узорцима, промене броја ентеробактерија, аеробних мезофилних бактерија и бактерија млечне киселине, односно ефекат на микробиолошки статус мяса у циљу продужавања његове одрживости. Део резултата односи се на промене физичко хемијских особина (pH вредност), промене садржаја укупног испарљивог азота, промене вредности киселинског броја, садржаја малондиалдехида и сензорних особина узорака млевеног мяса пакованог у вакуум, односно модификовану атмосферу, са и без додатка етарских уља. Резултати ове докторске дисертације могу наћи примену у пракси, нарочито у пољу органске производње где се уместо хемијских адитива и конзерванаса могу користити као антимикуробна и антиоксидативна средства.

IX ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

- да се докторска дисертација прихвати а кандидату одобри одбрана

1 11.05.2016.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30

др Милан Ж. Балтић, редовни професор
Факултет ветеринарске медицине,
Универзитета у Београду

др Вера Катић, редовни професор
Факултет ветеринарске медицине,
Универзитета у Београду

др Неђељко Карабасил, ванредни професор
Факултет ветеринарске медицине,
Универзитета у Београду

др Марија Докмановић, научни сарадник
Факултет ветеринарске медицине,
Универзитета у Београду

др Весна Ђорђевић, виши научни сарадник
Институт за хигијену и технологију меса,
Београд