

UNIVERZITET U BEOGRADU  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Stefan M. Simunović

**OPTIMIZACIJA PROCESA PROIZVODNJE  
TRADICIONALNIH FERMENTISANIH  
KOBASICA PRIMENOM SAVREMENIH  
METODA SENZORNE ANALIZE**

doktorska disertacija

Beograd, 2022.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF AGRICULTURE

Stefan M. Simunović

**OPTIMIZATION OF THE PRODUCTION  
PROCESS OF TRADITIONAL FERMENTED  
SAUSAGES USING MODERN METHODS OF  
SENSORY ANALYSIS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2022.

**MENTOR 1:**

**dr Igor Tomašević, redovni profesor**

Univerzitet u Beogradu

Poljoprivredni fakultet

**MENTOR 2:**

**dr Ilija Đekić, redovni profesor**

Univerzitet u Beogradu

Poljoprivredni fakultet

**ČLANOVI KOMISIJE:**

**dr Dušan Živković, redovni profesor**

Univerzitet u Beogradu

Poljoprivredni fakultet

**dr Nada Šmigić, redovni profesor**

Univerzitet u Beogradu

Poljoprivredni fakultet

**dr Slaviša Stajić, vanredni profesor**

Univerzitet u Beogradu

Poljoprivredni fakultet

**dr Vesna Đorđević, naučni savetnik**

Institut za higijenu i tehnologiju mesa u Beogradu

**dr Nikola Stanišić, viši naučni saradnik**

Institut za stočarstvo u Beogradu

Datum odbrane: \_\_\_\_\_

*Ovom prilikom želim da izrazim neizmernu zahvalnost mentoru, prof. dr Igoru Tomaševiću, na nesobičnom angažovanju i pomoći, dragocenim savetima, ukazanom vremenu i strpljenju.*

*Zahvalujem se i prof. dr Iliji Đekiću na angažovanju, korisnim i konstruktivnim savetima tokom izrade doktorske disertacije.*

*Zahvalujem se kolegama iz industrije mesa, kao i kolegama sa Instituta za higijenu i tehnologiju mesa i Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu na saradnji, timskom radu i profesionalnosti.*

*Zahvalujem se i dr Nikoli Stanišiću na konsultacijama i konstruktivnim savetima tokom izrade doktorske disertacije.*

*Veliku zahvalnost dugujem svim članovima komisije na svim korisnim savetima i predlozima koji su doprineli poboljšanju disertacije.*

*Na kraju, redove ove doktorske disertacije posvećujem svojoj porodici i svojoj zemlji Srbiji.*

# **Optimizacija procesa proizvodnje tradicionalnih fermentisanih kobasica primenom savremenih metoda senzorne analize**

## **REZIME**

Prekomeren unos masti negativno utiče na zdravlje ljudi jer može dovesti do povećanog krvnog pritiska, agregacije trombocita, razvoja insulinske rezistencije i dijabetesa, kao i povećanog rizika od infarkta miokarda i moždanog udara. Ova saznanja uticala su da se aktivnosti velikih multinacionalnih korporacija usmere na inicijative zasnovane na smanjenju količine masti u proizvodima, što je rezultovalo u velikom broju niskomasnih proizvoda na tržištu. Fermentisane kobasice su proizvodi čija proizvodnja podrazumeva upotrebu čvrstog masnog tkiva svinja, inače bogatog zasićenim masnim kiselinama. Jedna od najpopularnijih fermentisanih kobasica na srpskom tržištu jeste čajna kobasica koju odlikuje relativno visok sadržaj masti. Zbog toga, čajna kobasica je odabrana kao model kobasica za ispitivanje uticaja smanjenja količine masnog tkiva na različite parametre njenog kvaliteta što je ujedno predstavljao prvi cilj ove doktorske disertacije. Proizvedene su tri serije čajne kobasice sa različitom količinom čvrstog masnog tkiva: prva (kontrolna) serija sa 25%, druga sa 17,5% i treća sa 10%.

Nitriti se decenijama koriste u proizvodnji proizvoda od mesa zbog svog pozitivnog efekta na boju, oksidativnu stabilnost, formiranje ukusa i antimikrobnog dejstva protiv *Clostridium botulinum*. Međutim, pretpostavlja se da su nitriti glavni razlog zašto je Međunarodna agencija za istraživanje raka (engl. The International Agency for Research on Cancer) (IARC) svrstala proizvode od mesa u Grupu 1 (kancerogeno za ljude). To je doprinelo da zainteresovanost potrošača za prehrambene proizvode proizvedene prema tradicionalnoj recepturi, koja podrazumeva upotrebu samo prirodnih sastojaka, postane sve veća. Kako se crvena mlevena začinska paprika tradicionalno koristi u proizvodnji kulena, a pritom ispoljava neke od efekata nitrita pretpostavlja se da zahvaljujući velikom sadržaju crvenih pigmenata paprika ima veliki uticaj na boju kulena, koji možda prevazilazi uticaj nitrita. Takođe, paprika utiče na razvoj ukusnosti i povećanje oksidativne stabilnosti. Zbog toga, drugi cilj ove doktorske disertacije bio je ispitivanje uticaja smanjenja količine natrijum-nitrita ( $\text{NaNO}_2$ ) u kulenu na različite parametre kvaliteta. Ukupno su proizvedene tri serije kulena, od kojih je prva (kontrolna) sadržala 110 mg/kg  $\text{NaNO}_2$ , druga serija 55 mg/kg  $\text{NaNO}_2$ , dok je treća serija proizvedena bez upotrebe  $\text{NaNO}_2$ .

Njeguška kobasica se tradicionalno proizvodi na padinama planine Lovćen, u selu Njeguši koje se nalazi u neposrednoj blizini Bokokotorskog zaliva. Njena istorija proizvodnje datira iz 15. veka i usko se vezuje za proizvodnju Njeguške pršute. Uprkos tome, u naučnoj literaturi ne postoji ni jedna studija koja se bavila ispitivanjem različitih svojstava Njeguške kobasice. Stoga, treći cilj ove disertacije odnosio se na karakterizaciju Njeguške kobasice kao proizvoda, kao i na karakterizaciju njenih fizičko-hemijskih, teksturalnih i mikrobioloških promena tokom sušenja.

Za ispitivanje kvaliteta fermentisanih kobasica korišćene su četiri savremene metode senzorne analize: trodimenzionalno (3D) skeniranje, kompjuterski vizuelni sistem (CVS), oralno procesiranje i analiza privremene dominacije senzacija.

**Ključne reči:** **natrijum-nitrat, 3D skeniranje, kompjuterski vizuelni sistem, oralno procesiranje, privremena dominacija senzacija, smanjenje sadržaja masti, smanjenje sadržaja nitrita, Njeguška kobasica, kulen, čajna kobasica**

**Naučna oblast:** Tehnološko inženjerstvo

**Uža naučna oblast:** Tehnologija animalnih proizvoda

**UDK broj:** 637.523:543.92(043.3)

# **Optimization of the production process of traditional fermented sausages using modern methods of sensory analysis**

## **ABSTRACT**

Excessive fat intake has been found to negatively affect human health, as it can lead to increased blood pressure, platelet aggregation, the development of insulin resistance and diabetes, as well as an increased risk of myocardial infarction and stroke. These findings influenced the activities of multinational corporations to focus on initiatives based on reducing the amount of fat in products, which resulted in the development of numerous low-fat products. Production of fermented sausages involves the use of pork firm fatty tissue which is rich in saturated fatty acids. One of the most popular sausages on the Serbian market is tea sausage, which is characterized by a relatively high fat content. Therefore, tea sausage was chosen as a model sausage for investigation of the effect of fat reduction on various quality parameters, which was also the first goal of this doctoral dissertation. Three batches of tea sausage with different amount of fatty tissue were produced: the first (control) batch with 25%, the second with 17.5% and the third with 10% of fatty tissue.

Nitrites have been used for decades in the production of meat products due to their positive effect on color, oxidative stability, flavor formation and antimicrobial activity against *Clostridium botulinum*. However, nitrites are thought to be the main reason why the International Agency for Research on Cancer (IARC) classified meat products as Group 1 (carcinogenic to humans). This has influenced increased consumer interest in food products produced according to the traditional procedures, which implies nothing but the use of natural ingredients. On the other hand, red hot paprika powder, which is traditionally used in the production of kulen, exhibits some of nitrite effects. Due to high content of red pigments, paprika has an influence on the color of the kulen, but also on flavor development and increased oxidative stability. Therefore, the second goal of this doctoral dissertation was to investigate the impact of sodium nitrite ( $\text{NaNO}_2$ ) reduction in kulen. Three batches of kulen were produced, first of which was control and it contained 110 mg/kg of  $\text{NaNO}_2$ , the second batch was formulated with 55 mg/kg of  $\text{NaNO}_2$ , while the third batch was produced without  $\text{NaNO}_2$ .

Njeguška sausage is traditionally produced on the slopes of the Lovćen mountain, in the village of Njeguši, which is located near the Bay of Kotor. Its production history dates back to the 15th century and is closely related to the production of famous Njeguška dry ham. To our knowledge, there is not any study in the scientific literature that investigated properties of Njeguška sausage. Therefore, the third objective of this dissertation was characterization of Njeguška sausage as a product, as well as characterization of changes of physico-chemical, textural and microbiological changes during drying.

For the analysis of quality parameters of fermented sausages, four modern methods of sensory analysis were deployed: three-dimensional (3D) scanning, computer visual system (CVS), oral processing and analysis of temporary dominance of sensations.

**Key words:** sodium nitrate, 3D scanning, computer vision system, oral processing, temporal dominance of sensations, fat reduction, nitrite reduction, Njeguška sausage, kulen, tea sausage

**Academic expertise:** Technological engineering

**Field of Academic Expertise:** Animal Source Food Technology

**UDC:** 637.523:543.92(043.3)

# SADRŽAJ:

LISTA SKRAĆENICA .....	10
1. UVOD .....	1
2. PREGLED LITERATURE .....	3
2.1. Proces proizvodnje fermentisanih kobasica .....	3
2.1.1. Izbor i priprema sirovine.....	3
2.1.2. Izbor dodataka.....	3
2.1.3. Izrada nadeva kobasica .....	3
2.1.4. Punjenje kobasica.....	5
2.1.5. Dimljenje i fermentacija .....	5
2.1.6. Sušenje i zrenje .....	6
2.2. Pravilnik o kvalitetu usitnjenoj mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa.....	6
2.3. Istorijat i proizvodnja kulena u regionu .....	8
2.3.1 Baranjski kulen .....	8
2.3.2. Slavonski kulen.....	8
2.3.3. Petrovački kulen (Petrovska klobasa).....	9
2.3.4. Sremski kulen.....	9
2.3.5. Lemeški kulen.....	10
2.4. Proizvodnja Njeguške kobasice .....	11
2.5. Proizvodnja čajne kobasice .....	12
2.6. Nitriti i nitrati .....	13
2.7. Zdravstveni aspekt prekomerenog unosa masti .....	14
2.8. Savremene metode senzorne analize.....	15
2.8.1 3D lasersko skeniranje .....	15
2.8.2. Kompjuterski vizuelni sistem .....	16
2.8.3. Oralno procesiranje.....	16
2.8.4. Privremena dominacija senzacija.....	17
3. CILJ ISTRAŽIVANJA .....	18
4. MATERIJAL I METOD RADA .....	19
4.1. Anketa .....	19
4.2. Proizvodnja kobasica.....	19
4.2.1. Priprema uzoraka kulena.....	19
4.2.2. Priprema uzoraka <i>Njeguške</i> kobasice.....	19
4.2.3. Priprema uzoraka čajne kobasice .....	20
4.3. Fizičko-hemijske analize.....	21
4.3.1. Ispitivanje osnovnog hemijskog sastava .....	21

4.3.2. Ispitivanje sadržaja biogenih amina.....	21
4.3.3. Ispitivanje parametara oksidacije lipida i masnokiselinskog sastava .....	22
4.3.4. Ispitivanje sadržaja nitrita i nitrata.....	22
4.3.5. Ispitivanje teksture .....	22
4.4. Mikrobiološke analize .....	23
4.5. Savremene metode analize .....	23
4.5.1. 3D lasersko skeniranje .....	23
4.5.2. Merenje boje – Kompjuterski vizuelni system .....	24
4.5.3. Oralno procesiranje.....	25
4.5.4. Privremena dominacija senzacija.....	25
4.6. Senzorna analiza.....	26
4.7. Statistička obrada rezultata.....	26
<b>5. REZULTATI I DISKUSIJA .....</b>	<b>27</b>
5.1. Rezultati ispitivanja kulena .....	27
5.1.1. Anketa .....	27
5.1.2. Hemijska analiza.....	27
5.1.3. pH vrednost.....	28
5.1.4. Oksidativna stabilnost.....	31
5.1.5. Biogeni amini i mikrobiološka analiza .....	32
5.1.6. Boja .....	35
5.1.7. Analiza teksture .....	35
5.1.8. 3D skeniranje .....	39
5.1.9. Oralno procesiranje .....	40
5.1.10. Privremena dominacija senzacija.....	41
5.2. Rezultati ispitivanja Njeguške kobasice.....	43
5.2.1. Fizičko-hemijske analize .....	43
5.2.2. Biogeni amini.....	45
5.2.3. Mikrobiološka analiza.....	45
5.2.4. Boja .....	46
5.2.5. Analiza teksture .....	47
5.2.6. Senzorna analiza .....	48
5.3. Rezultati ispitivanja čajne kobasice .....	50
5.3.1. Anketa .....	50
5.3.2. Fizičko-hemijske analize .....	50
5.3.3. Oksidativna stabilnost.....	51
5.3.4. Mikrobiološka analiza.....	51

5.3.5. Boja .....	55
5.3.6. Analiza teksture .....	58
5.3.7. 3D lasersko skeniranje .....	58
5.3.8. Oralno procesiranje.....	61
5.3.9. Deskriptivna senzorna analiza .....	62
6. ZAKLJUČAK .....	64
7. LITERATURA .....	67
PRILOZI.....	76
BIOGRAFIJA KANDIDATA .....	78
Izjava o autorstvu .....	79
Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada.....	80
Izjava o korišćenju .....	81

## **LISTA SKRAĆENICA**

3D	Trodimenzionalno
a*	Udeo crvene boje
a <sub>w</sub>	Aktivnost vode
b*	Udeo žute boje
BMK	Bakterije mlečne kiseline
CIE	Međunarodna komisija za osvetljenje
CVS	Kompjuterski vizuelni sistem
EFSA	Evropska Agencija za Bezbednost Hrane
FAO	Organizacija za hranu i poljoprivredu
GDL	Glukono-delta-lakton
HPLC	Tečna hromatografija visokih performansi
IARC	Međunarodna agencija za istraživanje raka
ICP-MS	Indukovano spregnuta plazma sa masenom detekcijom
KNO <sub>2</sub>	Kalijum-nitrit
KNO <sub>3</sub>	Kalijum-nitrat
L*	Svetloća (Lightness)
LD	Limit detekcije
LK	Limit kvantifikacije
MS/MS	Masena detekcija
MUFA	Mononezasićene masne kiseline
NaCl	Natrijum-hlorid
NaNO <sub>2</sub>	Natrijum-nitrit
NaNO <sub>3</sub>	Natrijum-nitrat
PDO	Zaštićeno ime porekla
PGI	Zaštićena geografska oznaka
PUFA	Polinezasićene masne kiseline
SAD	Sjedinjene Američke Države
SD	Standardna devijacija
SEM	Standardna greška
SFA	Zasićene masne kiseline
SM	Suva materija
TDS	Privremena dominacija senzacija

## 1. UVOD

Fermentisane kobasice imaju relativno dugu istoriju proizvodnje na prostorima Evrope. Prepostavlja se da njihova proizvodnja potiče sa Mediterana odakle se raširila i na ostale delove sveta. Kao proizvodi sa visokom nutritivnom vrednošću i dugim rokom trajanja fermentisane kobasice zauzele su posebno mesto na trpezi evropskih potrošača. U zavisnosti od tradicije i religijskih uverenja, kao sirovina za proizvodnju fermentisanih kobasicica koriste se najčešće svinjsko ili/i juneće meso. Pored upotrebe različite vrste mesa, drugačija tehnologija proizvodnje, geografska lokacija, kao i dostupnost začina uticali su da fermentisane kobasice evoluiraju u veliki assortiman proizvoda. Postupak proizvodnje obuhvata nekoliko glavnih faza kao što su usitnjavanje mišićnog i masnog tkiva, dodavanje soli i začina, mešanje, punjenje, dimljenje, fermentacija, sušenje i zrenje. Danas, različiti tipovi fermentisanih kobasicica proizvode se širom sveta. Tradicionalan postupak proizvodnje do danas se nije bitno promenio, sa tim da je industrijalizacija sa sobom donela veliki broj uređaja koji su znatno olakšali rad i uticali na povećanje kapaciteta.

Kao zemlja sa veoma dugom istorijom stočarstva, Srbija se odlikuje dugom tradicijom proizvodnje fermentisanih kobasicica od kojih su najpoznatije kulen, sudžuk, Sremska, Užička, Njeguška i čajna kobasica. Istorija proizvodnje čajne kobasice datira iz ranih 60-ih godina prošlog veka kada je po prvi put proizvedena u industriji mesa Mesoproment u Zemunu (Radetić, 1997). Čajna kobasica je karakteristična po fino usitnjrenom nadevu, visokom udelu masnog tkiva i ravnomerno raspoređenim komadićima mesa i masnog tkiva na preseku proizvoda. Visok udeo masti u čajnoj kobasici potvrđuju Džinic i sar., 2015 koji prijavljuju da se sadržaj masti se u šest nasumično izabranih čajnih kobasicica različitim proizvođača kretao od 36,4% do 59,8%. U naučnoj literaturi, prekomeren unos masti dovodi se u vezu sa negativnim efektima po zdravlje ljudi. Neke od tih efekata uključuju povišen krvni pritisak, agregaciju trombocita, razvoj insulinske rezistencije i dijabetesa, kao i povećan rizik od infarkta miokarda i moždanog udara (Forouhi i sar., 2018; Lahoz i sar., 1997; Micha i Mozaffarian, 2010). Ova saznanja podstakla su prehrambenu industriju da svoje poslovanje usmeri i na razvoj novih proizvoda sa smanjenim sadržajem masti. Prva celina ove doktorske disertacije odnosi se na proizvodnju čajne kobasice sa smanjenim sadržajem masti i obuhvatila je proizvodnju tri šarže čajne kobasicice sa različitim sadržajem čvrstog masnog tkiva svinja (25%, 17,5% i 10%). Cilj ovog eksperimenta bio je ispitivanje uticaja vremena sušenja i sadržaja masti na različite parametre kvaliteta proizvoda.

U Evropi, sve je veća potražnja za tradicionalnim proizvodima od mesa koje potrošači prepoznaju kao hranu sa „čistom deklaracijom”, odnosno hranu proizvedenu bez upotrebe aditiva. Prema Radman (2005) potrošači su spremni da izdvoje više novca pod uslovom da hrana dolazi iz prirodnih izvora. Razvojem industrije neminovno je došlo do nastanka velikog broja aditiva koji su svoju primenu našli u prehrambenoj industriji. Njihova upotreba ima za cilj poboljšanje različitih svojstava proizvoda. Međutim, prehrambeni aditivi neretko se smatraju nepoželjnim sastojcima jer se dovode u vezu sa negativnim efektima po zdravlje ljudi. Jedan od veoma bitnih prehrambenih aditiva sa dugom tradicijom upotrebe u industriji mesa jeste natrijum-nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ). Nitriti ispoljavaju pozitivan uticaj na boju, deluju antioksidativno i ispoljavaju antimikrobni efekat prema *Clostridium Botulinum* (Fraqueza i sar., 2021; Holck i sar., 2017; Ozaki, Munekata, i sar., 2021). Sa druge strane, nitriti mogu negativno uticati na zdravlje ljudi jer u interakciji sa sekundarnim aminima mogu formirati kancerogene N-nitrozoamine (Flores i Toldrá, 2021). Prema Sindelar i Milkowski (2011), za postizanje karakteristične ružičaste boje salamurenog mesa potrebno je svega 2-14 mg/kg nitrita. Stoga, u pogledu postizanja karakteristične boje salamurenog mesa, dodavanje nitrita u količinama koje se koriste svakodnevno (oko 110 mg  $\text{NaNO}_2$ /kg nadeva, u zavisnosti od željene slanosti) u industriji nije opravdano. Zbog toga, druga celina ove doktorske disertacije odnosi se na proizvodnju tri serije kulena sa različitim sadržajem  $\text{NaNO}_2$  (110 mg/kg, 55 mg/kg i 0 mg/kg). Cilj ovog eksperimenta bio je ispitivanje uticaja vremena sušenja i sadržaja  $\text{NaNO}_2$  na različite parametre kvaliteta kulena.

U Evropi, broj proizvoda sa zaštićenim imenom porekla (engl. Protected Designation of Origin) (PDO) i zaštićenom geografskom oznakom (engl. Protected Geographical Indication) (PGI) je u konstantnom porastu (Lücke i Vogeley, 2012). Međutim, postoji veliki broj tradicionalnih proizvoda od mesa koji još uvek nisu registrovani, u većini slučajeva zbog nestandardizovane proizvodnje, nedostatka odgovarajućih standarda i naučnih podataka koji bi ih podržali. Jedan od takvih proizvoda jeste Njeguška kobasica čiji se počeci proizvodnje vezuju za 15. vek (FAO, 2017). Prema dostupnim podacima u literaturi, Njeguška kobasica nikada nije bila predmet naučnog istraživanja. U Srbiji i Crnoj Gori, trenutno nema prehrambenih proizvoda sa zaštićenom oznakom geografskog porekla prema Evropskim standardima o zaštiti oznake geografskog porekla (PDO i PGI). Stoga, poslednja celina ove disertacije odnosi se na karakterizaciju Njeguške kobasice kao proizvoda sa dugom tradicijom proizvodnje kao i na karakterizaciju samih fizičko-hemijskih, teksturalnih i mikrobioloških promena koji se odvijaju tokom procesa proizvodnje.

Poslednjih godina predstavljen je određen broj savremenih metoda senzorne analize. Neke od njih predstavljaju trodimenzionalno (3D) lasersko skeniranje, merenje boje pomoću kompjuterskog vizuelnog sistema (engl. Computer Vision System) (CVS), oralno procesiranje i TDS. Sve ove metode omogućavaju praćenje parametara kvaliteta prehrambenih proizvoda koji nisu bili obuhvaćeni standardnim fizičko-hemijskim, teksturalnim i senorskim ispitivanjima. Prema Barker i sar. (2018) upotreba tehnologije 3D skeneriranja u ispitivanju geometrijskih karakteristika prehrambenih proizvoda postaje sve dostupnija. Jedna od najvećih prednosti ove tehnike ogleda se u njenoj nedestruktivnosti. U studiji R. Zhang i sar. (2020) demonstrirano je merenje zapremine hrane nepravilnog oblika pomoću 3D skenera pri čemu su zabeležene relativno niska odstupanja u poređenju sa volumetrijskim merenjima. U istraživanju Adamczak i sar. (2018) pokazali su da je pomoću 3D skenera moguće približno odrediti masu mesa pilećih grudi, a na osnovu skeniranog trupa živine. Sa druge strane, boja predstavlja jedan od najbitnijih parametara kvaliteta fermentisanih kobasic. U studiji Tomasevic i sar. (2019) pokazana je superiornost CVS metode u poređenju sa tradicionalnom tehnikom merenja pomoću kolorimetra u pogledu tačnosti i preciznosti merenja boje proizvoda od mesa. Sledeća u nizu savremenih metoda obuhvaćena ovom disertacijom jeste oralno procesiranje. Oralno procesiranje hrane podrazumeva snimanje potrošača tokom konzumacije proizvoda nakon čega se iz video materijala prikupljaju različiti podaci, kao što su broj zagrižaja, vreme konzumacije jednog zalogaja, brzina žvakanja, brzina konzumacije i masa prosečnog zalogaja (Djekic i sar., 2020). Poslednja savremena tehnika obuhvaćena ovom disertacijom jeste metoda privremene dominacije senzacija (engl. temporal dominance of sensations) (TDS) koja se ogleda u beleženju vremena trajanja i redosleda percepcije definisanih senzornih atributa tokom konzumacije proizvoda.

Pre definisanja samog eksperimenta, u okviru ove disertacije sprovedena je anketa čiji je cilj bio da utvrdi mišljenje potrošača o sadržaju masti u čajnoj kobasici i sadržaju nitrita u kulenu. Eksperiment je definisan u skladu sa rezultatima sprovedene ankete u kojoj je otkriveno da većina potrošača smatra da je potrebno smanjiti sadržaj masti u čajnoj kobasici i sadržaj nitrita u kulenu.

## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Proces proizvodnje fermentisanih kobasica

#### 2.1.1. Izbor i priprema sirovine

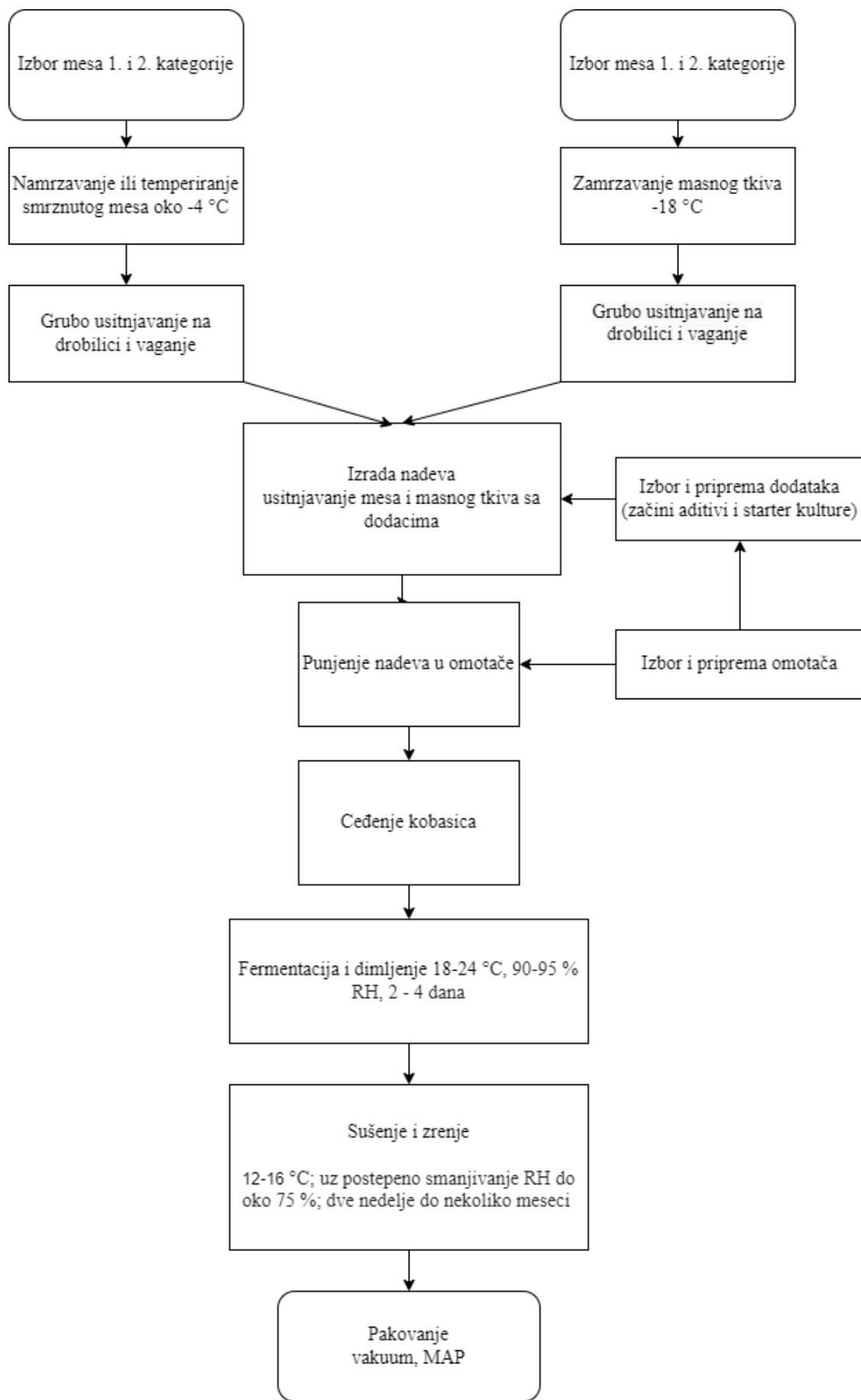
U zavisnosti od tipa, kao osnovne sirovine u proizvodnji fermentisanih kobasica najčešće se koriste meso svinja i goveda (Slika 1). U prošlosti, svinjski but i slanina su se usoljavali i kao takvi sušili, dok su se ostali delovi najčešće usitnjavali i kao takvi koristili u proizvodnji fermentisanih kobasica. Kao posledica veoma duge istorije uzgoja svinjana našim prostorima, najveći broj fermentisanih kobasica izrađuje se od mesa svinja. Sa druge strane, upotreba mesa goveda uslovljena je religijskim uverenjima i karakteristična je za manji broj kobasica kao što je sudžuk (Ikonić i sar., 2022). Upotreba drugih vrsta mesa, kao što su kozije i ovčije, ima ograničenu primenu, a na našim prostorima se tradicionalno koristi u izradi pirotske peglane kobasice (Simunović i sar., 2019). Pored upotrebe mesa, u proizvodnji fermentisanih kobasica karakteristična je upotreba masnog tkiva i to najčešće čvrstog masnog tkiva svinja. Prema Pravilniku o kvalitetu usitnjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa, čvrsto masno tkivo predstavlja „potkožno masno tkivo podbradnjaka, vrata, grebena, leđa i slabina, plećke i buta svinja, a meko masno tkivo su ostali delovi masnog tkiva, uključujući i masne obreske“ („Sl. glasnik RS“, br. 50/2019). Čvrsto masno tkivo svinja odlikuje se visokim udelom zasićenih masnih kiselina, koje imaju višu tačku topljenja, zbog čega ostaju čvrste prilikom narezivanja. U industrijskoj proizvodnji za koju je karakteristična upotreba kutera, koristi se zamrnutno čvrsto masno tkivo. Razlog za njegovo zamrzavanje jeste u olakšanom procesu usitnjavanja prilikom koga se formiraju ravnometerni komadići masnog tkiva, a pri tom ne dolazi do njegovog otapanja (Incze, 2007; Stajić, 2015).

#### 2.1.2. Izbor dodataka

Nezaobilazan dodatak u proizvodnji fermentisanih kobasica pretstavlja kuhinjska so čije se uloga pre svega ogleda u konzervisanju proizvoda. Dodatkom kuhinjske soli posepešuje se isparavanje vode iz nadeva kobasice, a samim tim i snižavanje vrednosti aktivnosti vode ( $a_w$ ) (Ruiz, 2007). Pored toga, uloga kuhinjske soli ogleda se i u razvoju ukusa proizvoda. Kuhinjska so se najčešće dodaje u količinama od 2 – 3% (Stajić, 2015). U tradicionalnoj proizvodnji fermentisanih kobasica koriste se različiti začini koji su uslovjeni tipom kobasica i tradicionalnom recepturom. Upotreba crvene mlevene začinske paprike karakteristična je u upotrebi kulena, dok se kod kobasica kao što su Njeguška i čajna paprika ne koristi. Još neke od tradicionalnih začina koji se na našim prostorima koriste u proizvodnji predstavljaju beli luk, beli i crni biber. Sa druge strane, tranziciju zanatske proizvodnje fermentisanih kobasica ka industrijskoj potpomogao je razvoj i upotreba prehrambenih aditiva od kojih su najznačajnije nitritne i nitratne soli, askorbinska kiselina i starter kultura. Askorbinska kiselina i njene soli imaju upotrebljavaju se zbog svog antioksidativno dejstva (Roncalés, 2007), dok se uloga starter kultura pre svega ogleda u pozitivnom uticaju na tok i obim mlečnokiselinske fermentacije (Živković i Stajić, 2016). Upotreba šećera, odnosno mono i disaharida, u formi glukoze i saharoze, primenjuje se sa ciljem obezbeđivanja supstrata mlečnokiselinskim bakterijama, čime se pospešuje njihova aktivnost (Stahnke i Tjener, 2007).

#### 2.1.3. Izrada nadeva kobasica

U prošlosti, prilikom izrade nadeva, meso i masno tkivo usitnjavali su se ručno, nožem, što je predstavljalo vremenski dosta zahtevan proces. Pojavom mašina za mlevenje mesa ovaj proces je u velikoj meri olakšan, ali je takođe uticao na promenu različitih parametara kvaliteta fermentisanih kobasica.



**Slika 1.** Dijagram toka proizvodnje fermetnisanih kobasica (Stajić, 2015)

Danas, u tradicionalnoj proizvodnji meso se najčešće usitnjava pomoć mašina za mlevenje mesa sa rešetkama različitih promera, od 4 do 13 mm (Tomasevic i sar., 2022). Nakon toga, mešanje nadeva sa dodacima vrši se pomoću mešalice ili pak ručno. Sa druge strane, industrijska proizvodnja podrazumeva upotrebu modernih mašina i uređaja, pa se kao jedan od prvih postupaka u procesu proizvodnje zamrznuto meso i masno tkivo usitnjava pomoću drobilice (Stajić, 2015). Manji komadi se zatim usitnjavaju na kuteru, a granulacija do koje se nadev usitnjava uslovljena je tipom kobasice. U kuteru se takođe obavlja mešanje osnovnih sirovina sa kuhinjskom solju i ostalim dodacima, a temperatura nadeva po pravilu bi trebala da se kreće oko -2 °C (Tomasevic i sar., 2022).

#### 2.1.4. Punjenje kobasica

Za punjenje nadeva fermentisanih kobasica tradicionalno se koriste creva svinja, goveda i ovaca. Najčešće su u upotrebi tanko, slepo i debelo crevo. Nakon klanja životinja, crevni sadržaj se mora mehanički istisnuti iz creva, a zatim je potrebno odstraniti masno tkivo, mezenterijum i sluzokožu (Stajić, 2015). Ukoliko se ne koriste odmah nakon pranja, creva se moraju usoliti kako bi se konzervirala. Prilikom upotrebe usoljenih creva, ona se prvo moraju potopiti u mlaku vodu kako bi postala elastična (Stajić, 2015). Sa druge strane, danas je sve češća upotreba veštačkih omotača od kolagena. Ovi omotači se odlikuju znatno boljim mehaničkim karakteristikama. Punjenje nadeva obavlja se pomoću uređaja za punjenje (tzv. „punilica“). Punilice mogu biti klipne i pužaste. Prve su manjeg kapaciteta i najčešće se mogu naći u zanatskoj proizvodnji. Sa druge strane, pužaste punilice su uglavnom većeg kapaciteta i primenu su našle u industrijskim uslovima. Jedna od najvećih prednosti modernih pužastih punilica jeste rad pod vakuumom, usled čega dolazi do istiskivanja vazduha iz nadeva, što je posebno značajno kada se govori o proizvodnji barenih kobasica, ali isto tako i o proizvodnji fermentisanih. Zaostali vazduh može uticati na oksidaciju koja rezultuje diskoloracijom proizvoda i pojmom užeglosti što za posledicu ima negativan uticaj na senzorni kvalitet proizvoda. Napunjeni kolageni omotači u zanatskim uslovima podvezuju se ručno (kanapom), dok se u industrijskim uslovima to obavlja uz pomoć poluautomatskih ili automatskih klipserica. Kolageni omotači mogu biti svetlijii ili tamniji, što kasnije direktno utiče na boju površine gotovog proizvoda. Kobasice se nakon punjenja kače na štapove, koji se stavljuju na pokretna kolica i po pravilu temperiraju u trajanju od jednog dana.

#### 2.1.5. Dimljenje i fermentacija

Dimljenje se u zanatskim uslovima obavlja u tradicionalnim pušnicama gde su kobasice postavljene iznad otvorenog ložišta. U industrijskim uslovima proces dimljenja se može obaviti u komorama za dimljenje, dok se proces sušenja i zrenja nastavlja u komorama za zrenje u kojima kobasice ostaju do kraja procesa proizvodnje. U zavisnosti od tehničkog rešenja dimogeneratora, dim se može generisati na različite načine, pa tako postoje klasični, frikcioni i dimogeneratori sa parom (Živković i Stajić, 2016). Živković i Stajić (2016) navode da se klasičnim dimogeneratorima dim generiše pomoću piljevine koja pada na zagrejanu ploču, dok se kod frikcionog dimogeneratora dim generiše trenjem komada drveta o površinu rotirajućeg valjka. U dimogeneratorima, piroliza se odvija na temperaturama između 300 i 400 °C (Živković i Stajić, 2016).

U pogledu smanjenja pH vrednosti, u proizvodnji fermentisanih kobasica koriste se dve glavne metode acidifikacije, a to su dodavanje regulatora kiselosti ili dodavanje starter kultura. Kao regulator kiselosti najčešće se koristi glukono-delta-lakton (GDL) koji je svrstan u aditive i ima oznaku E575. Nakon dodavanja u nadev, GDL brzo hidrolizuje na D-glukonsku kiselinu koja je direktno odgovorna za snižavanje vrednosti pH nadeva (Roncalés, 2007). Kobasice proizvedene sa dodatkom GDL-a često bivaju lošijeg senzornog kvaliteta u odnosu na kobasice proizvedene sa dodatkom starter kultura. Dodatak starter kultura podrazumeva korišćenje liofilizovanih kultura mikroorganizama, najčešće bakterija mlečne kiseline. U komercijalnim mešavinama starter kultura najčešće se nalazi nekoliko različitih sojeva bakterija, od kojih svaka ima posebnu ulogu u nadevu kobasica (Vignolo i

Fadda, 2007). Glavni cilj dodavanja startera jeste mlečno kiselinska fermentacija tj. proizvodnja mlečne kiseline, od strane bakterija mlečne kiseline, čime se snižava pH vrednost. Kako bi bakterije imale supstrat za fermentaciju, u nadev se dodaje u zavisnosti od željenog obima fermentacije, negde oko 0,5% glukoze. Takođe, umesto glukoze može se dodati i saharoza ali će u tom slučaju fermentacija nastupiti kasnije usled disaharidne strukture ovog šećera (Stahnke i Tjener, 2007; Škaljac, 2014). Prilikom dodavanja starter kultura, dobra praksa predstavlja rastvaranje sadržaja preparata u maloj kolicini vode nakon čega se dobijeni rastvor dodaje u nadev koji se nalazi u kuteru (Tomasevic i sar., 2022). U prvim danima proizvodnje, u klima komori relativna vlažnost vazduha (RVV) treba da se kreće od 90% do 98% na temperaturi od 22 °C. U zavisnosti od toga da li su u nadev dodavane starter kulture, mora se podesiti odgovarajuća temperatura u komori. Ukoliko su starter kulture dodavane, temperature je potrebno održavati između 22°C i 25 °C. Sa druge strane, upotreba GDL-a ne zahteva nužno više temperature u prvim danima sušenja, te se tako njegova upotreba preporučuje u zimskim mesecima ukoliko u klima komori nije moguće postići optimalne temperaturne uslove za aktivnost starter kultura.

### 2.1.6. Sušenje i zrenje

Proces sušenja započinje odmah nakon punjenja kobasica u omotače (Stajić, 2015). Na potrebno vreme sušenja utiču mnogi parametri kao što su sastav nadeva, dijametar omotača, uslovi temperature, relativne vlažnosti i brzine strujanja vazduha tokom sušenja. Glavni cilj procesa sušenja jeste isparavanje vode iz nadeva kobasica čime dolazi do smanjenja  $a_w$  vrednosti proizvoda. Tokom sušenja u kontrolisanim uslovima, temperatura i RVV se postepeno smanjuju. Međutim, neophodno je voditi računa da ne dođe do njihovog naglog smanjenja kako ne bi došlo do pojave tzv. suvog ruba koji se negativno odražava na dalji tok procesa sušenja, a time i na kvalitet finalnog proizvoda. Fermentacija je veoma važan preduslov za pravilan proces sušenja, jer snižavanjem pH vrednosti dolzi do smanjenja sposobnosti vezivanja vode proteina mesa čime je sušenje kobasice u značajnoj meri olakšano (Stajić, 2015).

Može se reći da se procesi fermentacije, sušenja i zrenja odvijaju istovremeno. Pa tako zrenje kobasica započinje već prilikom formiranja nadeva kobasice. Zrenje podrazumeva proteolitičke i lipolitičke promene na proteinima i lipidima koji se odvijaju tokom procesa proizvodnje. Usled dejstva proteolitičkih enzima, koji poreklom mogu biti iz mesa ili iz bakterija, dolazi do razgradnje proteina na peptide, zatim na manje peptide sve do nastanka aminokiselina (Tjener i Stahnke, 2007). Kao rezultat proteolitičkih promena formira se karakteristična tekstura i aroma proizvoda. U isto vreme odvija se i proces lipolize prilikom čega dolazi do razgradnje lipida od strane lipaza. Proizvodi lipolize su u najvećoj meri zaslužni za nastanak aromatičnih jedinjenja koja u velikoj meri utiču na ukusnost fermentisanih kobasic (Cocconcelli i Fontana, 2010).

## 2.2. Pravilnik o kvalitetu usitnjenoj mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa

Zahtevi kvaliteta koji fermentisane kobasice moraju da ispunjavaju u prometu navedeni su u Pravilniku o kvalitetu usitnjenoj mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019). Prema Pravilniku, fermentisane kobasice dele se na fermentisane suve i polusuve kobasice. U fermentisane suve kobasice spadaju domaći kulen, kulen, zimska salama, sremska kobasica, sudžuk i čajna kobasica („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019). Sa druge strane, u fermentisane polusuve kobasice spadaju panonska kobasica i čajni namaz („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019). Član 40. ovog Pravilnika bliže propisuje uslove koje fermentisane kobasice moraju da ispune, pa se tako navodi da se „fermentisane kobasice dobijaju od mesa domaćih papkara i kopitara prve i druge kategorije, mesa živine prve kategorije i mesa divljači, masnog tkiva i dodataka. Posle punjenja u omotače, fermentisane kobaice konzervišu se postupcima fermentacije i sušenja, odnosno zrenjem, sa ili bez dimljenja” („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019). Dalje, u Pravilniku se navode dodaci čija je upotreba dozvoljena u njihovoj proizvodnji, a to su „so, soli za salamurenje, začini, ekstrakti začina, šećeri, aditivi, starter kulture, kao i vino, pivo i jaka alkoholna pića” („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019).

Što se tiče proizvoda koji se proizvode pod drugim nazivom, a pripadaju fermentisanim kobasicama, u njihovoj proizvodnji mogu se koristiti i „arome dima, prirodne arume, vlakna uključujući i inulin, omega 3-masne kiseline, vitamini, mineralne materije, ugljeni hidrati, mleko i proizvodi od mleka i belančevinasti proizvodi od mleka, hrana i proizvodi biljnog porekla i to pečurke, žitarice, povrće, voće i njihovi proizvodi” („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019).

Dalje, Pravilnik bliže propisuje uslove za fermentisane suve kobasicice u i definiše da su to „zreli i osušeni proizvodi od mesa koji se proizvode i stavljuju u promet pod nazivom domaći kulen, kulen, zimska salama, sremska kobasica, sudžuk i čajna kobasica ili pod drugim nazivom” („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019).

Fermentisane suve kobasicice u proizvodnji i prometu treba da ispunjavaju sledeće zahteve kvaliteta („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019):

- 1) površina nije deformisana, omotač nije oštećen i dobro prileže uz nadev;
- 2) nadev na preseku ima izgled mozaika sastavljenog od približno ujednačenih komadića mesa i masnog tkiva, koji su ravnomerno raspoređeni i međusobno povezani;
- 3) na preseku nema šupljina i pukotina;
- 4) imaju stabilnu boju i prijatan i karakterističan miris i ukus;
- 5) imaju čvrstu konzistenciju;
- 6) sastojci nadeva se prilikom narezivanja ne razdvajaju;
- 7) pH vrednost je najmanje 5,0;
- 8) sadrže najviše do 35% vlage;
- 9) sadržaj proteina mesa je najmanje 20%, sadržaj kolagena u proteinima mesa najviše 15%, a sadržaj kolagena u proteinima mesa u proizvodu od mesa živine najviše 10%.

Pravilnik preciznije određuje zahteve kvaliteta koje treba da ispuni proizvod pod nazivom domaći kulen. Preciznije, u Pravilniku se navodi da se domaći kulen dobija od „svinjskog mesa prve kategorije, čvrstog masnog tkiva, soli ili soli za salamurenje, mlevena crvene začinske paprike, ekstrakta crvene začinske paprike i drugih začina i starter kultura” („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019). Takođe, prema Pravilniku „nadev domaćeg kulena je srednje do grubo usitnjeni i puni se u slepo crevo ili zadnje crevo (kular) od svinja” („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019). Sadržaj proteina mesa mora biti najmanje 24%, sadržaj kolagena u proteinima najviše 10%, a pH mora biti 5,3 ili viša („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019).

Što se tiče zahteva kvaliteta za kulen, u njegovoj proizvodnji mogu da se koriste „svinjsko meso prve i druge kategorije, čvrsto masno tkivo, so ili soli za salamurenje, šećer, aditivi, mlevena crvena začinska paprika, ekstrakt crvene začinske paprike i drugih začina i starter kulture” („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019). Nadev kulena se puni u prirodne i veštačke omotače većeg prečnika, dok je sadržaj proteina mesa najmanje 22%, sadržaj kolagena u ukupnim proteinima 15%, a pH vrednost najmanje 5 („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019).

Čajna kobasica je takođe bliže definisana ovim Pravilnikom u kome se navodi da se ovaj tip kobasicice proizvodi od mesa i masnog tkiva, a da je nadev fino do srednje usitnjeni i da se puni u veštačke omotače. U proizvodnji čajne kobasicice mogu se koristiti „so, soli za salamurenje, začini, ekstrakti začina, šećeri, aditivi, starter kulture, kao i vino, pivo i jaka alkoholna pića” („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019).

## 2.3. Istorijat i proizvodnja kulena u regionu

Proizvodnja kulena karakteristična je za zemlje Balkana i verovatno predstavlja fermentisanu kobasicu sa najdužom tradicijom proizvodnje na ovim prostorima. Kulen se može smatrati posebnom vrstom fermentisanih kobasica za koju je karakteristična upotreba omotača velikog promera i upotreba crvene začinske paprike. U Hrvatskoj, najpoznatija su dva tipa kulena i to Baranjski i Slavonski kulen. Ova dva proizvoda dobila su zaštitu geografskog porekla (PGI) prema Evropskom standardu. U Srbiji, najpoznatije vrste ove kobasice jesu Petrovačka kobasicica, Sremski kulen i Lemeški kulen. Ovi proizvodi zaštićeni su oznakog geografskog porekla prema Srpskim propisima.

### 2.3.1 Baranjski kulen



**Slika 2.** Baranjski kulen  
(<https://www.belje.hr/>)

Baranjski kulen se proizvodi u severoistočnom delu Hrvatske, na teritoriji severno od donjeg toka reke Drave, a pre njenog ulivanja u Dunav (Slika 2) (EK, 2015/C 139/05). U Elaboratu o Baranjskom kulenu navodi se da se kulen prvi put spominje u Baranji u Radovima Nikole Tordinca (1858. - 1888. godine). Međutim, u drugom srpskom rečniku objavljenom 1852. godine, Vuk Stefanović Karadžić uveliko opisuje kulen, ali kao kobasicu napunjenu iznutricama sličnu Magenwurst kobasicici (Tomasevic i sar., 2022). Baranjski kulen pripada tipu fermentisanih kobasica od svinjskog mesa, začinjenih crvenom mlevenom začinskom paprikom,

belim lukom i biberom. Proizvod se puni u slepo crevo svinja (tzv. kata) čime poprima karakterističan oblik (EK, 2015/C 139/05). Krajnji proizvod je čvrste konzistencije, sa izraženim prisustvom plesni na površini proizvoda. Što se tiče hemijskog sastava, Baranjski kulen sadrži maks. 40% vode, min. 29% i maks. 25% masti. Za proizvodnju Baranjskog kulena koristi se između 80-90% mesa i između 10-20% masnog tkiva. Od mesnog dela, 80% čini meso svinjskog buta ili slabine. Za drugi deo mesnog dela (oko 20%) može se koristiti meso svinjske plećke (EK, 2015/C 139/05). Meso i masno tkivo koji se koriste za proizvodnju kulena ne moraju biti proizvedeni na teritoriji Baranje. Prilikom izrade nadeva, meso i masno tkivo usitnjavaju se na mašini za mlevenje mesa koristeći rešetke promera 6-8 mm.

### 2.3.2. Slavonski kulen

Slavonski kulen proizvodi se u Slavoniji, severoistočnom delu Hrvatske, koja se graniči sa Baranjom (Slika 3). Godine 2017. u registar Evropskih proizvoda sa zaštitom geografskog porekla upisan je i



**Slika 3.** Slavonski kulen  
(<https://www.tportal.hr/>)

Slavonski kulen, a naziv Slavonski kulen se po prvi put pominje 1968. godine u Vinkovačkom listu (EK, 2015/C 375/08). Slavonski kulen je tradicionalan proizvod u tipu fermentisane suve kobasice koji se puni u slepo crevo svinja i podvrgava sušenju i zrenju u trajanju od najmanje 150 dana. U pogledu hemijskog sastava, gotov proizvod treba da sadrži maks. 40% vode, 35% masti i aktivnost vode ( $a_w$ ) ispod 0,90. U proizvodnji Slavonskog kulena obavezno je korišćenje mesa i masnog tkiva svinja opršenih i utovljenih na teritoriji Slavonije, teških najmanje 140 kg (EK, 2015/C 375/08). Prilikom proizvodnje, koriste se meso buta, slabine, leđa, plećke, vrata i leđna slanina. Što se tiče začina i dodataka, koriste se kuhinjska so, crvena

mlevena začinska paprika i beli luk. Masa jednog komada uslovljena je zapreminom slepog creva pa zbog zoga može varirati. Prema elaboratu Kovačića i Karolyja (2014), meso i masno tkivo usitnjavaju se na mašini za mlevenje mesa kroz rešetke promera 6-12 mm. Nakon punjenja, napunjena slepa creva podvezuju se kanapom najčešće od konoplje, a zatim se dime pomoću sagorevanja bukve, graba ili jasena (Kovačić i Karolyi, 2014).

### 2.3.3. Petrovački kulen (Petrovska klobasa)



**Slika 4.** Petrovački kulen  
(<https://sr.wikipedia.org>)

Petrovačka kobasica, odnosno Petrovska klobasa, tradicionalno se proizvodi u Bačkom Petrovcu od mesa svinja Landrasa starih između 9 i 12 meseci i težine od 135 kg do 200 kg (Slika 4) (Petrović i sar., 2011). Petrovački kulen je 2007. godine upisan u registar proizvoda sa zaštitom oznake geografskog porekla na osnovu elaborata pod nazivom „Opis geografskog područja i tehnički elaborat o načinu proizvodnje i specifičnim karakteristikama proizvoda Petrovačka kobasica” (Petrović i sar., 2007). Prema Tomasevic i sar. (2022), u proizvodnji ove kobasicice može se koristiti meso buta, plećke, slabine, vrata, slanine, kao i mesni obresci. Odnos mesa prema masnom tkivu treba da bude između 85:15 i 80:20 (Tomasevic i sar., 2022).

Kao i kod drugih tradicionalnih fermentisanih kobasicice, proizvodnja Petrovačkog kula najčešće započinje u kasnu jesen i traje do kraja zime. Ovaj period u godini pogodan je za proizvodnju zbog niskih temperatura koje nisu pogodne za rast i razvoj mikroorganizama i insektata. U zavisnosti od tradicije, u proizvodnji kobasicice može se koristiti neohlađeno meso odmah nakon klanja. U svakom slučaju, meso se prvo seče nožem na manje delove nakon čega se usitnjava na mašini za mlevenje mesa. Ono po čemu je Petrovački kulen prepoznatljiv svakako jeste upotreba kima u zrnu koja kobasicici daje karakterističan izgled i ukus. Pored kima, u proizvodnji se još koriste so, beli luk i šećer (Tomasevic i sar., 2022). Mešanje se najčešće obavlja ručno, a smesa se puni u zadnji deo svinjskog debelog creva (pravo crevo) ili veštačke kolagene omotače promera od 60 mm do 65 mm (Petrović i sar., 2007). Prema elaboratu Petrović i sar. (2007) dužina kobasicice treba da bude od 35–45 cm, dok je u slučaju korišćenja kolagenih omotača dužina oko 50 cm.

Nakon izvršenog punjenja kobasicice je potrebno temperirati („ceđenje“) gde dolazi do kondenzacije vlage iz vazduha na površini kobasicice. Tek nakon što se površina kobasicice zasuši može se pristupiti tradicionalnom postupku dimljenja. Proces dimljenja obavlja se u tradicionalnoj pušnici u trajanju od oko 10 dana, a za dimljenje se između ostalih vrsta koriste i drvo višnje, trešnje i kajsije (Petrović i sar., 2007). U zavisnosti od tipa upotrebljenog omotača zavisi i dužina sušenja odnosno zrenja proizvoda (Petrović i sar., 2007). Naravno, pored tipa omotača na dužinu procesa utiču i temperatura, relativna vlažnost vazduha, kao i konstrukcija pušnice koja utiče na pomenute parametre.

### 2.3.4. Sremski kulen

Sremski kulen je verovatno najpoznatiji tip kulena u Srbiji i karakterističan po tome što se za punjenje može koristiti slepo crevo svinja tzv. „kata“ (Slika 5). Zbog same dimenzije omotača, koja je dosta šira od pravog creva ili kolagenih omotača, kulen poprima specifičan oblik i ukus. Sremski kulen se proizvodi isključivo u Sremu, regionu koji obuhvata teritoriju između reke Dunav na severu i istoku, i reke Save na jugu. U registar Zavoda za intelektualnu svojinu Sremski kulen upisan je 1992. godine na osnovu glavnog elaborata o zaštiti oznake geografskog porekla (Tubić i sar., 1992). U elaboratu je navedeno da se u proizvodnji Sremskog kulena dodaje kuhinjska so u količini od 2,6%, dok se crvena

začinska paprika dodaje u količini od 1,5% mase mesa i čvrstog masnog tkiva (Tubić i sar., 1992). Umesto masnog tkiva sa leđa svinja koristi se podbradnjak („gronik“) koji se seče na komade od oko  $10\text{ cm}^3$  koji se namrzavaju (Tubić i sar., 1992). Specifičnost proizvodnog procesa Sremskog kulena je ta što se svi osnovni sastojci koji uključuju mesa, gronik i ljutu papriku pre usitnjavanja pomešaju

u mešalici, a tek onda melju u mašini za mlevenje mesa, kroz rešetku promera 13 mm (Tubić i sar., 1992). Uporedno, potrebno je pripremiti prethodno očišćena i usoljena svinjska slepa creva. Slepoto crevo se pomoću mašine za punjenje puni nadevom, a prema Tubić i sar. (1992) masa jednog komada iznosi između 1,6 i 1,8 kg, dok je promer kobasice oko 10–11 cm. Kao i kod ostalih kobasicu iz ove grupe, napunjene kobasice je potrebno temperirati („ocediti“) usled čega dolazi do kondenzacije na površini slepog creva. U proizvodnji Sremskog kulena proces dimljenja traje oko pet dana na  $18\text{ }^\circ\text{C}$  (Tubić i sar., 1992). Uslovi temperature i relativne vlažnosti vazduha tokom sušenja Sremskog kulena navedeni su u

tabeli 1 (Tubić i sar., 1992). Nakon procesa dimljenja, kobasice se suše u klima komori tokom 65 dana, a kalo sušenja na kraju procesa iznosi oko 45% (Tubić i sar., 1992). Razlog za ovako dugačak period sušenja je u specifičnom omotaču sa velikim prečnikom koji zahteva duže vreme kako bi došlo do prenosa vlage iz unutrašnjosti do spoljašnjosti proizvoda.

**Tabela 1.** Uslovi temperature i relativne vlažnosti vazduha (%) tokom sušenja Sremskog kulena (Tubić i sar., 1992).

Dani	Relativna vlažnost	Temperatura
6–9	88–85 %	$12\text{ }^\circ\text{C}$
10–13	85–82 %	$12\text{ }^\circ\text{C}$
14–20	82–79 %	$12\text{ }^\circ\text{C}$
21–30	79–76 %	$12\text{ }^\circ\text{C}$
31–41	76–73 %	$12\text{ }^\circ\text{C}$
42–52	75–72 %	$12\text{ }^\circ\text{C}$
52–60	75–72 %	$12\text{ }^\circ\text{C}$

### 2.3.5. Lemeški kulen



**Slika 6.** Lemeški kulen (<https://www.rtv.rs>)

Lemeški kulen proizvodi se u selu Svetozar Miletić koje se nalazi nadomak Sombora. Selo je u prošlosti nosilo ime Lemeš, te otuda dolazi ime Lemeški kulen. Oznaka geografskog porekla dobijena je 2014. godine na osnovu „Elaborata o zaštiti imena porekla Lemeškog kulena“ (Vuković i sar., 2014). Za proizvodnju Lemeškog kulena upotrebljava se meso svinja starijih od 12 meseci hranjenih prirodnim hranivima poslednja dva do tri meseca, težine od 150 kg pa naviše (Vuković i sar., 2014; Vuković i sar., 2012). Za izradu nadeva koristi se krto meso sa buta, plećke i vrata sa uklonjenim masnim i vezivnim tkivom (Vuković i sar., 2012). Prilikom pripreme nadeva potrebno je usitniti meso i masno tkivo na

mašini za mlevenje sa rešetkama promera od 6 do 8 mm. Usitnjenom mesu i masnom tkivu se zatim dodaje kuhinjska so u količini 2–2,2% i 3–4% lemeške crvene paprike. Lemeška paprika takođe se proizvodi u selu Svetozar Miletić i proizvodi se isključivo od plodova crvene začinske paprike sa najmanje pet žilica (Vuković i sar., 2014). Prema Vuković i sar. (2014), nakon branja, paprike se nižu na vence i suše na vazduhu i sušionici, a zatim se sa njih odstranjuje peteljke, a ostatak se samelje dva puta u mlinu. Kao i u slučaju Sremskog kulena, nadev za Lemeški kulen takođe se puni u slepa creva svinja koja se prethodno moraju dobro oprati i usoliti (Slika 6). Nadev je potrebno dobro izmešati kako bi se svi sastojci dobro povezali, dok se tokom punjenja mora obratiti pažnja da vazduh ne zaostane u nadevu (Vuković i sar., 2014). Vazduh može da poremeti tok sušanja i da prouzoruje oksidativne promene koje negativno utiču na senzornu prihvatljivost proizvoda tj. dovode do nastanka užeglosti i diskoloracije proizvoda. Kako tokom sušenja kulena ne bi došlo do pucanja omotača, kulen je potrebno podvezati kanapom i tako smanjiti pritisak nadeva na omotač. Nakon podvezivanja, kulen se kači na drvene štapove i ostavlja preko noći kako bi se njegova površina zasušila pre dimljenja. Dimljenje Lemeškog kulena obavlja se u periodu od sedam dana tokom kojih se dimi hladnim dimom najčešće dobijenim pirolizom piljevine bukve (Vuković i sar., 2014). Sušenje i zrenje kulena traju oko 6 meseci tokom kojih se u nadevu odvijaju različite proteolitičke, lipolitičke i glikolitičke promene koje doprinose formiranju karakterističnog ukusa ovog proizvoda.

Lemeški kulen se na zrenje iz pušnice prenosi u prostorije namenjene za zrenje, a zidane od nepečene cigle (Vuković i sar., 2014). Prema Vuković i sar. (2014), konzistencija Lemeškog kulena posle zrenja postaje čvrsta, a tekstura ostaje meka i sočna. Na kraju procesa zrenja, Lemeški kulen ima relativno visoku vrednost pH (5,5), što ukazuje na slabiji intenzitet fermentacije kao posledica sušenja na niskim temperaturama (Vuković i sar., 2012). Što se tiče  $a_w$  vrednosti, nakon 3 meseca zrenja iznosila je 0,90, a nakon 6 meseci se smanjila do 0,86 što je dovoljno nisko da spreči razmnožavanje patogenih bakterija (Vuković i sar., 2012). Sa aspekta bezbednosti, postizanje niske  $a_w$  vrednosti je od veoma velikog značaja, pogotovo u uslovima gde je pH vrednost proizvoda relativno visoka kao što je to slučaj kod Lemeškog kulena. Gotov proizvod sadrži oko 33% proteina, 33% masti i samo 28,2% vlage, kao posledica dugog sušenja tokom 6 meseci (Vuković i sar., 2012).

#### 2.4. Proizvodnja Njeguške kobasice

Na padinama planine Lovćen, u neposrednoj blizini Bokokotorskog zaliva, nalazi se selo Njeguši, poznato po tradicionalnoj proizvodnji pršute, kobasicice i sira. Nadmorska visina od 900 m i specifična klima tog lokaliteta pogoduju izradi tradicionalnih proizvoda. Spoj mediteranske i planinske mikroklimе i dodavanje samo prirodnih sastojaka čine ove proizvode posebnim. Njeguška pršuta, zatim Njeguška kobasicica i Njeguški sir poznati su delikatesi u zemljama bivše Jugoslavije i kao takvi su vrlo cenjeni. Njeguši su nekada bili jako zabačeno selo, a put seljaka do lokalne pijace u Kotoru bio je veoma strm i stenovit, zadavajući im muke prilikom transporta svojih proizvoda. Prema podacima Organizacije za hranu i poljoprivredu, Njegušku kobasicu i prštu meštani su počeli proizvoditi u 15. veku (FAO, 2017). Kako se za proizvodnju pršute koristi svinjski but, za proizvodnju kobasicice proizvođači su verovatno koristili ostale delove trupa (FAO, 2017). Upotreba plećke i vrata u proizvodnji Njeguške kobasicice je poželjna zbog masnog tkiva koje se nalazi na ovim regijama mišića. Generalno, Njeguška kobasicica prepoznaljiva je po relativno visokom sadržaju masnog tkiva. Naravno, masti su pored nutritivnog aspekta jako važne u pogledu ukusa jer imaju ulogu rastvarača za veliki broj aromatičnih jedinjenja. Pored toga, masti



**Slika 7.** Njeguška kobasicica  
(<https://rodjaksasela.rs>)

direktno doprinose povećanju mekoće proizvoda, a proizvodi sa višim sadržajem masti često su ocenjeni višim ocenama od proizvoda sa smanjenim sadržajem masti (Leite i sar., 2015). FAO (2017) procenjuje godišnju proizvodnju Njeguške kobasice na oko 1000 t i vrednost od 7 miliona evra.

Kao rezultat migracije stanovništva, proizvodnja Njeguške kobasice se proširila i na ostale zemlje bivše Jugoslavije (Simunovic i sar., 2021). Za proizvodnju Njeguške kobasice koristi se čvrsto masno tkivo svinja, meso svinja, so, crni biber i beli luk, a pojedini proizvođači dodaju i male količine crvene začinske paprike (FAO, 2017). Kobasica se najčešće puni u prethodno oprana i usoljena svinjska creva. Za Njegušku kobasicu karakterističan je njen poprečni presek na kome se jasno vide dobro povezani i relativno krupni komadi mesa i masnog tkiva (Slika 7). Ovo se postiže na dva načina, prvi jeste seckanje mesa i masnog tkiva nožem do postizanja komada veličine oko  $1\text{ cm}^3$  ili mlevenjem mesa kroz rešetku većeg promera. Ovakav izgled poprečnog preseka karakterističan je za Njegušku kobasicu. Bitno je pomenuti da je presek izletničke kobasice veoma sličan preseku Njeguške, ali se razlikuju u promeru omotača i količini masnog tkiva.

## 2.5. Proizvodnja čajne kobasice

Čajna kobasica predstavlja fermentisanu kobasicu koja se proizvodi od svinjskog mesa i dodatka čvrstog masnog tkiva svinja (Slika 8) („Sl. glasnik RS“, br. 50/2019). Njena proizvodnja pretežno je vezana za industrijske uslove jer usitnjavanje dela mesa podrazumeva upotrebu kutera. Što se tiče istorije proizvodnje čajne kobasice pretpostavlja se da je njen proizvodnja započela ranih šezdesetih godina prošlog veka u industriji mesa Mesoproment u Zemunu (Radetić, 1997). U proizvodnji čajne kobasice karakteristična je upotreba relativno visokog udela masnog tkiva (25–30%). U Nemačkoj, kobasica pod nazivom Teawurst za koju se pretpostavlja da je preteča čajnoj kobasici, pripada grupi polusuvih fermentisanih kobasici i ima mazivu teksturu (Tomasevic i sar., 2022). Pretpostavlja se da je čajna kobasica proizvedena po sličnoj recepturi, ali da se vremenom usled produženog vremena sušenja i izmenjenih uslova fermentacija razvila u proizvod kakvim ga danas znamo. U literaturi se navodi da se u početku za izradu nadeva čajne kobasice koristila i junetina, ali se nakon određenog vremena receptura izmenila te se danas gotovo isključivo podrazumeva upotreba samo svinjskog mesa, iako i dalje postoji određen broj zanatskih proizvođača koji koriste juneće meso za izradu nadeva (Tomasevic i sar., 2022).



Slika 8. Čajna kobasica  
(<https://cenoteka.rs/>)

Kao što smo već pomenuli, čajna kobasica pripada grupi industrijskih kobasici pa se usled toga proces proizvodnje u velikoj meri razlikuje od proizvodnje fermentisanih kobasici sa dužom tradicijom proizvodnje kao što su kulen, sremska i Njeguška kobasica. Deo mesa i čvrstog masnog tkiva neophodno je prethodno zamrznuti. Zamrznute komade mesa i čvrstog masnog tkiva potrebno je usitniti u kuteru do komadića prečnika od oko 2 mm (Tomasevic i sar., 2022). Zatim, ostatak mesa usitniti na mašini za mlevenje mesa sa rešetkama promera 4 mm, pa dodati u kuter sa prethodno usitnjениm zamrznutim mesom i masnim tkivom (Tomasevic i sar., 2022). U kuter se zatim dodaju so, začini i starter kulture. Od začina u proizvodnji čajne kobasice najčešće se koriste crni i beli biber, kao i beli luk. Askorbinska kiselina poznata po svom antioksidativnom efektu dodaje se zajedno sa začinima. Prema Tomasevic i sar. (2022) dužina sušenja

čajne kobasice varira, a kreće se u opsegu od 18 do 30 dana, dok se dimljenje obavlja u periodu od jednog do tri dana.

U Pravilniku o kvalitetu usitnjjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa naglašeno je da se nadev čajne kobasice puni u veštačke omotače, usled čega se mora voditi računa o temperaturi

nadeva kako ne bi došlo do pucanja omotača („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019). Naime, kako navode Tomasevic i sar., (2022) tokom usitnjavanja mesa u kuteru dolazi do pojave trenja, što dovodi do povećanja temperature nadeva, gde treba voditi računa da temperatura nadeva ne pređe -2°C. Danas su moderni kuteri opremljeni temperaturnim sondama, koje služe za praćenje promena u temperaturi nadeva tokom usitnjavanja i mešanja, te je kontrolisanje ovog parametra u industrijskim uslovima dosta olakšano.

U istraživanju Dzinic i sar. (2015) ispitivano je šest nasumično uzorkovanih čajnih kobasicu različitih proizvođača, gde je ustanovljeno da se sadržaj proteina, masti i vlage dosta razlikovao među uzorkovanim kobasicama. Sadržaj vlage se krećao od 10,55% do 34,45% što ispunjava zahteve u pogledu sadržaja vlage Pravilnika o kvalitetu usitnjjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa (Džinic i sar., 2015; „Sl. glasnik RS”, br. 50/2019). Sadržaj masti krećao se od 36,4% do 59,8%, dok je sadržaj proteina najmanje varirao i to od 20,75% do 25,21% (Džinic i sar., 2015). Džinić i sar. (2016) sprovode sličan eksperiment u kom prikazuju manje razlike u pogledu pomenutih hemijskih parametara čajnih kobasicu šest različitih proizvođača. Stoga se za sadržaj vlage beleže rezultati od 20,2% do 30,9%, dok je najviši utvrđen sadržaj masti bio je 48,3%, a najniži 36,7%.

## 2.6. Nitriti i nitrati

Nitriti i nitrati se već decenijama koriste u proizvodnji proizvoda od mesa. Najčešće se koriste kalijum-nitrat ( $\text{KNO}_3$ ) i natrijum-nitrat ( $\text{NaNO}_3$ ), kao i kalijum-nitrit ( $\text{KNO}_2$ ) i natrijum-nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) (Slika 9). Nitriti su prehrambeni aditivi koji se široko koriste u sušenju mesa zbog svog pozitivnog uticaja na boju proizvoda, oksidativnu stabilnost, poboljšanje ukusa, i antimikrobnog dejstva na patogene mikroorganizme, posebno na *Clostridium botulinum* (Fraqueza i sar., 2021; Holck i sar., 2017; Ozaki, Munekata, i sar., 2021).

*Clostridium botulinum* jeste anaerobna sporogena gram pozitivna bakterija koja luči egzotoksin sa sedam različitih antigenskih tipova (Leung i Burr, 2014). Botulizam jeste bolest nervnog sistema koje izazivaju egzotoksini koji ne prelaze moždano-krvnu barijeru već utiču samo na periferni nervni

sistem (Leung i Burr, 2014). Prema Leung i Burr (2014) oni se sastoje od teških i lакih lanaca međusobno povezanih disulfidnim vezama. Tip A često se dovodi u vezu sa povrćem, tip B sa mesom, a tip E sa ribom (Leung i Burr, 2014). Spore *Clostridium botulinum* su termostabilne i preživljavaju kraću izloženost temperaturama do 100 °C (Leung i Burr, 2014). Zbog toga, za uništavanje spora ovih bakterija neophodno je primeniti intenzivnije termičke tretmane. Može se reći da je upotreba nitrita u proizvodnji polutrajnih proizvoda pre svega važna u pogledu formiranja karakteristične svetlo crvene boje kao



Slika 9. Hemijska formula natrijum-nitrita ( $\text{NaNO}_2$ )

rezultat formiranja nitrozilmioglobina ( $\text{MbFeIINO}$ ) (Götterup i sar., 2008). Sa druge strane, upotreba nitrita često se povezuje sa negativnim efektima na zdravlje ljudi, što proizilazi iz interakcije nitrita sa sekundarnim aminima kada se mogu formirati kancerogeni N-nitrozamini (Flores i Toldrá, 2021). Smatra se da bi formiranje ovih jedinjenja moglo biti jedan od razloga zašto je Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) svrstala proizvode od mesa u Grupu 1 (kancerogeno za ljudе) (IARC, 2018; Wakamatsu i sar., 2020). Pored kancerogenih efekata, utvrđeno je da nitrozamini imaju mutageno dejstvo i da mogu izazvati kardiovaskularne bolesti (Sheweita i sar., 2014). Prema Živković i Stajić (2016), za nastanak nitrozoamina optimalna pH kreće se u opsegu 2–4, dok iznad pH od 5,5 nitrozoamini ne mogu nastati. Prema Pravilniku o prehrambenim aditivima, u termički netretirane proizvode može se dodati maksimalno 150 mg/kg nitrata i 150 mg/kg nitrita („Sl. glasnik RS”, br. 53/2018). Živković i Stajić (2016) navode da pored kancerogenog dejstva, prekomereni unos nitrita

ispoljava toksično dejstvo, gde unosom  $< 1$  g dolazi do intoksikacije, a pri konzumiranju  $\geq 4$  g nitriti imaju letalno dejstvo.

Poslednjih godina, kao rezultat povećanja svesti potrošača o potencijalnim zdravstvenim rizicima prehrambenih aditiva, potražnja za prehrambenim proizvodima proizvedenim bez upotrebe aditiva je u porastu (Simunovic i sar., 2021). To predstavlja jedan od razloga zašto su aktivnosti velikih multinacionalnih korporacija više fokusirane na inicijative zasnovane na smanjenju količine aditiva u prehrambenim proizvodima.

Da bi se ispunili zahtevi potrošača potrebno je primeniti neki od sledećih pristupa:

- isključiti aditive iz recepture proizvoda,
- smanjiti sadržaj aditiva u recepturi proizvoda, ili
- zameniti aditive prirodnim alternativama.

Pomenute pristupe moguće je primeniti samo u slučaju ako oni ne dovode do smanjenja kvaliteta, a pre svega bezbednosti proizvoda. Upotreba povrća sa relativno visokim sadržajem prirodno prisutnih nitrata je predložena, a to su: cvekla, celer, zelena salata, spanać i rotkvice (Gassara i sar., 2016; Götterup i sar., 2008). Bez obzira na to što nitrati potiču iz prirodnih izvora, oni se i dalje smatraju jedinjenjima potencijalno opasnim po ljudsko zdravlje jer se mogu transformisati u nitrite i nakon toga sa sekundarnim aminima formirati kancerogene nitrozoamine (Gassara i sar., 2016). Preciznije, nitrati se tokom sušenja tradicionalnih proizvoda od mesa mogu redukovani u nitrite pomoću enzima mikroorganizama (Živković i Stajić, 2016). Zahvaljujući tome, moguće je proizvesti proizvode bez upotrebe aditiva, a da se pri tom donekle postignu željeni efekti koje ispoljavaju nitriti.

Začini kao što su ruzmarin, muskatni orah, origano i crvena paprika sa jakim antibakterijskim i antioksidativnim delovanjem takođe su predloženi kao dobra alternativa nitritima (Gassara i sar., 2016; Ozaki, Santos, i sar., 2021; Tang i sar., 2021). Međutim, kako su ovi začini bogati isparljivim jedinjenjima, glavni problem u njihovoј primeni jeste neophodnost upotrebe velikih količina što nesumnjivo dovodi do pogoršanja senzornih svojstava proizvoda. Nitriti i nitrati mogu se naći u smeši sa natrijum-hloridom kako bi se omogućila njihova bezbedna upotreba u industriji hrane. Prema Pravilniku o kvalitetu usitnjenoj mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa, soli za salamurenje predstavljaju mešavine soli za ishranu ljudi sa nitritima (nitritna so za salamurenje) ili nitratima (so za salamurenje). Nitritna so za salamurenje prema Pravilniku sadrži 0,4%–0,5% NaNO<sub>2</sub> ili KNO<sub>3</sub>, dok so za salamurenje sadrži do 0,5% NaNO<sub>3</sub> ili KNO<sub>3</sub> („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019). Prema Pravilniku o prehrambenim aditivima, maksimalna dozvoljena količina nitrita u formi NaNO<sub>2</sub> ili KNO<sub>3</sub>, kao i nitrata u formi NaNO<sub>3</sub> ili KNO<sub>3</sub>, je propisana na po 150 mg/kg proizvoda („Sl. glasnik RS”, br. 53/2018).

## 2.7. Zdravstveni aspekt prekomerenog unosa masti

Poslednjih decenija u međunarodnim naučnim časopisima objavljen je veliki broj radova koji su se bavili proučavanjem negativnog uticaja povišenog unosa masti na zdravlje ljudi (Forouhi i sar., 2018; Lahoz i sar., 1997; Micha i Mozaffarian, 2010). Ovi efekti obično uključuju povećan krvni pritisak, agregaciju trombocita, razvoj insulinske rezistencije i dijabetesa, kao i povećan rizik od infarkta miokarda i moždanog udara (Forouhi i sar., 2018; Lahoz i sar., 1997; Micha i Mozaffarian, 2010). Sve ovo verovatno je dovelo do toga da marketinške aktivnosti multinacionalnih korporacija stavljuju fokus na proizvode sa smanjenim sadržajem masti. Ovo je uticalo na razvoj velikog broja proizvoda sa smanjenim sadržajem masti. Modifikacija tehnološkog postupka proizvodnje, kao i same recepture zahteva temeljnu analizu svih parametara koji mogu dovesti do smanjenja kvaliteta i bezbednosti proizvoda. Generalno, proizvodi sa niskim sadržajem masti obično se doživljavaju kao proizvodi lošijeg kvaliteta sa stanovišta potrošača (Hamilton i sar., 2000). Razlog za to je u svojstvu masti da doprinose poboljšanju ukusa, sočnosti, izgleda i teksture proizvoda. Pored toga što na tržištu postoji veliki broj proizvoda sa smanjenim sadržajem masti, njihov broj je veoma mali u slučaju proizvoda

od mesa. Prema Franco i sar. (2019), smanjenje sadržaja masti u kobasicama nije trivijalan zadatak. Osim uticaja masti na senzorne parametre o kojima je prethodno bilo reči, masti su jako važne sa tehnološke tačke gledišta zbog njihovog pozitivnog uticaja na kontinuirano oslobođanje vlage iz unutrašnjih slojeva kobasice (Muguerza i sar., 2002). Takođe, cena masnog tkiva je nekoliko puta niža u odnosu na cenu krtog mesa zbog čega masti značajno utiču na pojeftinjenje proizvoda. U proizvodnji fermentisanih kobasicica koristi se čvrsto masno tkivo svinja koje se nalazi na leđima i naleže na *M. longissimus dorsi*. Pored toga, masno tkivo sa predela buta se takođe može koristiti. Generalno, postoje dva glavna pristupa smanjenju negativnog efekta na zdravlje prilikom unosa ovih proizvoda. Prvi pristup podrazumeva direktno smanjenje količine masnog tkiva koje se koristi u recepturi i njegovu zamenu raznim vrstama biljnih ulja (maslinovo, seme grožđa, laneno, itd.) u obliku različitih gelova (Kurćubić i sar., 2022). Razlog za popularnost biljnih ulja leži prevashodno u njihovom sastavu koji sadrži manje SFA i ima niži odnos n-6/n-3 masnih kiselina. Međutim, ovi proizvodi u većini slučajeva ne uspevaju da zadovolje zahteve potrošača u pogledu ukusa, a pored toga podložniji su oksidaciji zbog većeg sadržaja nezasićenih masnih kiselina (Franco i sar., 2019; Muguerza i sar., 2002; Pintado i Cofrades, 2020). Drugi pristup podrazumeva direktno smanjenje sadržaja masnog tkiva u formulaciji kobasice povećanjem sadržaja mesa (Lorenzo i Franco, 2012). Glavni nedostaci ovog pristupa jesu nastajanje naborane površine kobasice i veći troškovi proizvodnje koji nastaju kao rezultat korišćenja većeg sadržaja mesa u recepturi (Muguerza i sar., 2002). Ipak, nedavna studija Cullere i sar. (2020) pokazala je da kobasica proizvedena sa nižim sadržajem masnog tkiva ima najveći početni sadržaj vlage, ali i značajno niži sadržaj vlage na kraju zrenja u odnosu na onaj koji se nalazi u kobasicama proizvedenim sa višim sadržajem masti. Povećana kinetika sušenja nemasnih kobasicica ukazuje na mogućnost skraćenja vremena sušenja i poboljšanje isplativosti njihove proizvodnje.

## 2.8. Savremene metode senzorne analize

### 2.8.1 3D lasersko skeniranje

Razvoj tehnologije uticao je na konstrukciju velikog broja uređaja čiji rad se zasniva na 3D tehnologiji. Dva najpoznatija tipa ovih uređaja jesu 3D štampači i 3D skeneri. 3D štampači svoju primenu pronašli su između ostalih i u prehrambenoj industriji gde se uveliko koriste u proizvodnji hrane. U prilog tome govori veliki broj naučnih radova objavljenih u ovoj oblasti (Kelkar i sar., 2011; Mollazade i sar., 2021; Yan i sar., 2022; Zhu i sar., 2022). Sa druge strane, upotreba 3D laserskog skeniranja u proizvodnji hrane poslednjih godina postaje sve zanimljivija brojnim istraživačima širom sveta (Goňi i sar., 2007; Uyar i Erdoğdu, 2009; R. Zhang i sar., 2020; W. Zhang i sar., 2016). Neke od mogućnosti 3D skeniranja uključuju merenje zapremine, površine i dužine. Merenjem pomenutih fizičkih veličina moguće je dovesti te veličine u zavisnost sa različitim fizičko-hemijskim i senzornim parametrima. Tako su Lorentzen i sar., (2021) u njihovom istraživanju gde je vršeno rasoljavanje usoljenog bakalara uočena pozitivna korelacija između promene mase, zapremine i sadržaja vlage i ukazano je na potencijal 3D laserskog skeniranja u ispitivanju promena mase proizvoda pomoću merenja zapremine 3D skenerom. Godinu dana ranije, Okinda i sar. (2020) su u svom istraživanju ispitivali upotrebu 3D laserskog skeniranja u proceni zapremine jaja, gde su utvrdili da je metoda tačna, ponovljiva, brza i nedestruktivna. Stoga, Okinda i sar. (2020) su predložili aplikaciju 3D laserskog skeniranja u sortiranju i klasifikaciji konzumnih jaja. Dalje, u istraživanju Adamczak i sar. (2015) ispitivana je mogućnost određivanja hemijskog sastava svinjskog mesa pomoću 3D laserskog skeniranja. Rezultati ispitivanja pokazali su značajnu korelaciju između gustine mesa i vode ( $r=0.52$ ), proteina ( $r=0.59$ ) i masti ( $r=0.66$ ) čime su ukazali na potencijalnu mogućnost korišćenja 3D skenera u proceni hemijskog sastava mesa. Na osnovu pregleda literature može se zaključiti da je upotreba 3D skenera u ispitivanju prehrambenih proizvoda relativno mlada tehnika i da se značajniji napredak na ovom polju može očekivati u narednim godinama. U okviru ove doktorske disertacije, svrha

upotrebe skenera bila je da se ispita promena zapremine ispitivanih fermentisanih kobasicama tokom procesa sušenja. Tradicionalna volumetrička metoda nije pružala ovu mogućnost zbog svoje destruktivnosti.

### **2.8.2. Kompjuterski vizuelni sistem**

Boja predstavlja jednu od najvažnijih senzornih karakteristika mesa i proizvoda od mesa jer predstavlja jednu od prvih svojstava sa kojom potrošači prilikom kupovine dolaze u neposredan kontakt. U zavisnosti od grupe i tipa proizvoda, različite proizvode od mesa karakteriše različita boja pa tako prilikom kupovine određenog proizvoda, potrošači empirijski vrše odabir proizvoda sa želenom bojom. U nedavnom istraživanju Tomasevic i sar. (2019) poređene su dve tehnike za merenje boje. Prva tehnika merenja odnosila se na merenje parametara boje tradicionalnim kolorimetrom proizvođača Minolta koji se već dugi niz godina koristi za merenje parametara boje prehrabnenih proizvoda. Tapp i sar. (2011) navodi da je u 60% radova obuhvaćeni njihovim istraživanjem, a objavljenih između 1998. i 2007. godine, boja mesa i proizvoda od mesa merena kolorimetrom proizvođača Minolta što potvrđuje i Milovanovic (2021) u svojoj doktorskoj disertaciji. Prema Milovanović (2021), najveća mana tradicionalnog kolorimetra ogleda se u njegovoj ponovljivosti i tačnosti. Pored toga, prilikom merenja boje uzorka Minoltom površina merenja je unapred definisana, dok CVS omogućuje različite površine merenja istog uzorka.

Sa druge strane, CVS metoda predložena u studiji Tomasevic i sar. (2019) pokazala se kao tačnija i preciznija za merenje parametara boje prvenstveno dvobojnih proizvoda od mesa na čijem preseku se jasno razaznaju dve faze (meso i masno tkivo), ali takođe i za merenje boje jednobojnih proizvoda. CVS metoda se bazira na merenju boje pomoću fotoaparata koji se nalazi u drvenoj kutiji koja je iznutra obložena fotografskim platnom (Tomasevic i sar., 2019). Kutija je osvetljena pomoću četiri fluorescentne lampe sa temperaturom boje od 6500 K postavljenih na svaku od stranica kutije. Na ovaj način, uzorak koji se postavlja na dno kutije je ravnomerno osvetljen sa svih strana. Za kalibraciju fotoaparata koristi se pločica koja se sastoji od 24 različite boje koje je neophodno fotografisati neposredno pre fotografisanja uzorka, a dobijene slike se zatim obrađuju u kompjuterskom softverima gde se vrši merenje parametara boje.

### **2.8.3. Oralno procesiranje**

Oralno procesiranje predstavlja relativno mladu senzornu analizu koja je po prvi put predstavljena pre pre desetak godina (He i sar., 2022). Ona podrazumeva praćenje toka konzumacije hrane od momenta prvog zagrižaja do momenta gutanja (J. Chen, 2009). Učesnicima analize daje se određena porcija hrane nakon čega se video kamerom snimaju tokom konzumacije. Porcije hrane mere se pre i nakon konzumacije kako bi se dobio tačan podatak o količini konzumirane hrane (Djekic i sar., 2020). Analizom video materijala dobija se prvi set podataka koji se odnosi na masu zaloga, prosečno vreme konzumacije jednog zaloga i broj zagrižaja. Na osnovu dobijenih parametara lako se može doći do drugog seta podataka koji je definisan parametrima kao što su brzina žvakanja (odnos broja zagrižaja i vremena konzumacije po jednom zalogaju) i brzina konzumacije (odnos mase zaloga sa vremenom konzumacije). Ukoliko se paralelno sa analizom oralnog procesiranja ispita i osnovni hemijski sastav proizvoda, moguće je doći do podataka kao što su stopa unosa masti (odnos unete količine masti po jedinici vremena), stopa unosa proteina i stopa unosa ugljenih hidrata. U zavisnosti od vrste i tipa proizvoda, vrši se odabir željenih parametara oralnog procesiranja koji će biti praćeni tokom analize.

#### **2.8.4. Privremena dominacija senzacija**

Sa druge strane, još jedna mlada tehnika senzorne analize jeste TDS. Ona je po prvi put predstavljena pre nešto manje od dve decenije, tačnije 2003. godine (Di Monaco i sar., 2014). Metoda se zasniva na prepoznavanju senzornih svojstava prehrambenih proizvoda od momenta prvog zagrižaja do gutanja (Di Monaco i sar., 2014). Za razliku od velikog broja senzornih analiza gde je neophodno prisustvo iskusnih ocenjivača, za metodu privremene dominacije senzacija poželjno je učestovanje ocenjivača koji nemaju prethodno znanje o tradicionalnim deskriptivnim senzornim testovima (Di Monaco i sar., 2014). Neki od tradicionalnih deskriptivnih senzornih testova jesu metod profilisanja tekture, kvantitativna deskriptivna analiza i senzorni spektar. U zavisnosti od tipa proizvoda, na treningu koji prethodi analzi oralnog procesiranja potrebno je odrediti svojstva (senzacije) i definisati ih, kako bi svi ocenjivači na isti način shvatili značenje određene senzacije (Di Monaco i sar., 2014). U publikaciji Di Monaco i sar. (2014) dati su primeri odabranih senzacija za pržene štapiće na bazi kukuruznog brašna: hrskavost, zrnastost, kremastost, ukus sira i uljastost. Od momenta prvog zagrižaja ocenjivač treba da odabere jednu od senzacija koju doživljava kao najdominantniju u određenom trenutku. Kada u narednim sekundama konzumacije dominantu senzaciju zameni druga senzacija ocenjivač treba da je označi. Generalno, ocenjivačima je dozvoljeno da jednu istu senzaciju biraju više puta tokom analize. Na osnovu rezultata analize konstruišu se TDS krive koje daju odgovor na pitanje koja senzacija je bila najdominantnija u određenom vremenu i za koliki ideo ocenjivača. Prema dostupnim podacima iz literature, metoda oralnog procesiranja do sada nije korišćena u ispitivanju senzornog kvaliteta fermentisanih kobasica. Dobijeni rezultati u okviru ove disertacije pružiće uvid u parametre oralnog procesiranja fermentisanih kobasica i pokazati uticaj različitog sadržaja masnog tkiva i nitritnih soli na njihove vrednosti.

### 3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ove doktorske disertacije bio je postavljen u skladu sa rezultatima prethodno sprovedene ankete čiji je cilj bio da ispita mišljenje potrošača prema sadržaju masti u čajnoj kobasici i sadržaju nitrita u kulenu. Rezultati ankete u kojoj je učestvovalo 854 građana Republike Srbije otkrili su da većina potrošača smatra da je potrebno smanjiti sadržaj masti u čajnoj kobasici i sadržaj nitrita u kulenu. Zbog toga, ova doktorska disertacija je podeljena u tri glavne celine:

Prvi cilj disertacije odnosio se na smanjenje sadržaja  $\text{NaNO}_2$  u tradicionalnom kulenu. Ovaj eksperiment je obuhvatio proizvodnju tri serije kulena sa različitim sadržajem  $\text{NaNO}_2$  (110 mg/kg, 55 mg/kg i bez  $\text{NaNO}_2$ ). Cilj ovog eksperimenta bio je ispitivanje uticaja vremena sušenja i sadržaja  $\text{NaNO}_2$  na različite parametre kvaliteta kulena.

Drugi cilj ove disertacije odnosio se na karakterizaciju Njeguške kobasice kao proizvoda sa dugom tradicijom proizvodnje, karakterizaciju samih fizičko-hemijskih, teksturalnih i mikrobioloških promena koji se odvijaju tokom procesa proizvodnje i ispitivanje uticaja vremena sušenja na određene parametre kvaliteta Njeguške kobasice.

Poslednji cilj ove disertacije odnosio se na proizvodnju čajne kobasice sa smanjenim sadržajem masti. U okviru ovog eksperimenta proizvodene su tri šarže čajne kobasice sa različitim sadržajem čvrstog masnog tkiva svinja (25%, 17,5% i 10%). Cilj ovog eksperimenta bio je ispitivanje efekta redukcije masnog tkiva na različite parametre kvaliteta proizvoda.

Parametri kvaliteta fermentisanih kobasicica obuhvaćeni ovom disertacijom podrazumevali su ispitivanja:

- osnovnog hemijskog sastava kobasicica (proteini, masti i voda),
- pH vrednosti,  $a_w$  vrednosti, sadržaja pepela i kala sušenja,
- sadrži nitrita i nitrata,
- masnokiselinskog sastava,
- sadrži malonaldehida, kiselinskog i peroksidnog broja,
- mikrobiološkog kvaliteta,
- sadržaja biogenih amina,
- parametra boje mesa, masnog tkiva i površine proizvoda ( $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$ ) pomoću CVS,
- promene parametara teksture (čvrstoća, elastičnost, gumljivost, žvakljivost i kohezivnost),
- promene geometrije proizvoda pomoću 3D skenera,
- privremene dominacije senzacija (TDS),
- parametara oralnog procesa.

## 4. MATERIJAL I METOD RADA

Ispitivanja obuhvaćena ovom doktorskom disertacijom obavljena su u Laboratoriji za biotehnološka istraživanja i kontrolu bezbednosti i kvaliteta hrane Instituta za higijenu i tehnologiju mesa u Beogradu i u Laboratoriji za tehnologiju mesa Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

### 4.1. Anketa

Pre sprovođenja eksperimenta, sprovedena je anketa u kojoj je učestvovalo 854 građana Srbije. Ispitanici su bili nasumično odabrani, a bili su deo šire profesionalne i privatne grupe poznanika. Anketa je sprovedena početkom 2021. godine, a rezultati ankete korišćeni su za potrebe definisanja dizajna eksperimenta. Anketa je organizovana u tri glavne celine od kojih se prva se odnosila na socio-ekonomske demografske karakteristike ispitanika. Drugi deo ankete odnosio se na ispitivanje potrošača u vezi njihovog ponašanja prilikom kupovine fermentisanih kobasicica, kao i na informacije vezane za potrošnju kobasicica. U ovom delu ankete proizvođači su birali jedan od 3–5 ponuđenih odgovora. Cilj poslednjeg dela ankete bio je dobijanje informacija u vezi sa stavom potrošača kada su u pitanju sadržaj masti u čajnoj kobasici i sadržaj nitrita u kulenu. U poslednjem delu ankete potrošači su svoj stav izražavali na skali od 1 do 9 (1 – uopšte se ne slažem, 9 – u potpunosti se slažem). U saglasnosti sa preporukama Israel (2003), a koristeći navedeni proračun, utvrđeno je da je minimalna veličina uzorka za anketu 400, sa nivoom poverenja od 95%. Sve nepotpuno popunjene ankete nisu uzete u obzir prilikom obrade rezultata.

### 4.2. Proizvodnja kobasicica

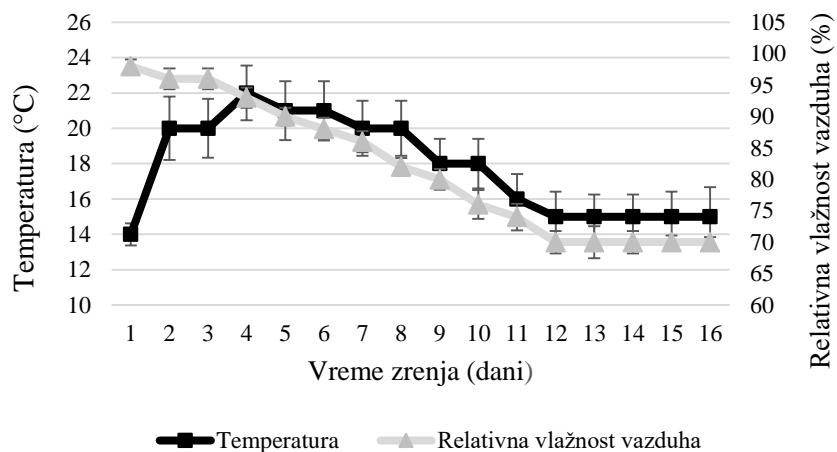
#### 4.2.1. Priprema uzoraka kulena

U okviru eksperimenta koji se odnosi na smanjenje sadržaja nitrita u kulenu proizvedene su tri identične serije kulena (svaka po 50 kg) koristeći 80% svinjskog buta i 20% svinjskog čvrstog masnog tkiva. Kontrolna (N110) serija je sadržala 110 mg/kg NaNO<sub>2</sub>. Druga serija (N55) je proizvedena sa 50% redukcije nitrita (55 mg/kg NaNO<sub>2</sub>), dok je treća (NF) serija proizvedena bez dodatka NaNO<sub>2</sub>. Zamrznuta svinjska mast usitnjena je u kuteru KU 130 AC (Laska, Traun, Austrija) i pomešana sa prethodno samlevenim (6 mm) svinjskim butom. Od ostalih dodataka dodata je so (2,2%), crvena ljuta paprika u prahu (1%), glukoza (0,5%) i komercijalna mešavina starter kultura cT salami fast (CreaTec GmbH, Friedrichshafen, Nemačka) koja se sastojala od *Lactobacillus spp.*, *Pediococcus pentosaceus*, *Staphilococcus carnosus* i *Staphilococcus xylosus*. Količina dodate soli i začina preračunata je na ukupnu količinu nadeva. Nadev kulena punjen je pod vakuumom pomoću punilice VF616 (Handtmann, Biberach an der Riss, Nemačka) u kolagene omotače prečnika 55 mm. Nakon ceđenja u trajanju od jednog dana, kobasicice su tradicionalno hladno dimljene u trajanju od dva dana, postupkom kao što je opisano u prethodnom odeljku za čajnu kobasicu. Nakon dimljenja, kobasicice su prebačene u klima komoru i bile podvrgnute sledećim uslovima temperature i relativne vlažnosti vazduha: 3 dana (23 °C, 90–95% RVV), 4 dana (20 °C, 85% RVV), 8 dana (18 °C, 80% RVV) i 23 dana (12–15 °C, 70% RVV). Uzorci kulena za analizu uzeti su na dan proizvodnje, a zatim nakon 8, 16, 24, 32 i 40 dana proizvodnje. Nakon 40. dana sušenja, svi uzorci su upakovani u vakuum i ostavljeni u rashladnoj komori na 4°C. Da bi se odredio rok trajanja kulena, uzorkovanje proizvoda upakovanih u vakuum obavljeno je nakon 50 i 100 dana skladištenja. Deo uzoraka je vakumiran, dok je drugi deo uzorkovan u sterilne kese za zamrzivač.

#### 4.2.2. Priprema uzoraka *Njeguške* kobasicice

Za proizvodnju *Njeguške* kobasicice korišćena je svinjska plećka (70%) i čvrsto masno tkivo svinja (30%). Meso je prvo očišćeno od vidljivog vezivnog i masnog tkiva nakon čega je zajedno sa čvrstim masnim tkivom samleveno kroz rešetku dijametra 13 mm. Nakon toga, u nadev je dodata so (2,3%), crnim biber (0,3%) i beli luk (0,2%). Mešanje usitnjenog mesa i dodataka obavljeno je u kuteru.

Nadev je zatim napunjen pod vakuumom u prirodna svinjska tanka creva dijametra 38 mm. Napunjene kobasice bile su dužine oko 30 cm i težine između 300 i 350 g. Nakon temperiranja, kobasice su prebačene u tradicionalnu pušnicu u kojoj su podvrgnute hladom dimljenju. Uslovi temperature i relativne vlažnosti tokom dimljenje i sušenja prikazane su na grafiku br. 1.



**Grafik 1.** Uslovi temperature (°C) i relativne vlažnosti vazduha (%) tokom sušenja Njeguške kobasice.

Kobasice su dimljene u trajanju od tri dana tokom dva do tri sata dnevno. Za dimljenje je korišćen dim dobijen tradicionalnim postupkom sagorevanjem bukove piljevine ( $\varnothing$  5 mm) u otvorenom ložištu (300–400 °C). Sadržaj vlage strugotine bukovog drveta bio je približno 10%. Temperatura sagorevanja je kontrolisana dodavanjem vlažne piljevine. Udaljenost između ložišta i najnižeg nivoa kobasica bila je 4 m. Nakon dimljenja, kobasice su prebačene u klima komoru u kojoj su kobasice bile podvrgnute sušenju/zrenju tokom 13 dana u kontrolisanim uslovima. Uzorci za analizu uzeti su na dan proizvodnje, a zatim nakon 4, 8, 12 i 16 dana proizvodnje. Deo uzorka je vakumiran, dok je drugi deo uzorkovan u sterilne kese za zamrzivač.

#### 4.2.3. Priprema uzorka čajne kobasice



**Slika 10.** Napunjena čajna kobasica

Proizvedene su tri serije čajne kobasice (po 40 kg) sa različitom količinom čvrstog masnog tkiva u formulaciji (25%, 17,5% i 10%): sa visokim sadržajem masti (HF) (kontrolna), sa srednjim sadržajem masti (MF) i sa niskim sadržajem masti (LF), redosledno (Slika 10). Ostatak nadeva kod kobasica sa smanjenim sadržajem masnog tkiva sastojao od svinjskog buta očišćenog od vidljivog masnog i vezivnog tkiva. Čvrsto masno tkivo i jedan deo svinjskog buta su zamrznuti (-18 °C) i usitnjeni u kuteru KU 130 AC (Laska, Traun, Austrija). Nakon usitnjavanja, dodati su prethodno samleven svinjski but (4 mm), so (2,2%), beli biber (0,15%), crni biber (0,15%), beli luk (0,2%), dekstroza (0,6%), natrijum-nitrit (110 mg/kg) i mešavina starter kultura cT salami fast (CreaTec GmbH, Friedrichshafen, Nemačka). Količina dodate soli i začina preračunata je na ukupnu količinu nadeva. Nadev je između tokom 2 min i napunjen pod vakuumom u kolagene omotače prečnika 40 mm korišćenjem punilice VF616 (Handtmann, Biberach an der Riss, Nemačka). Nakon temperiranja u trajanju od jednog dana, kobasice su premeštene u komoru za

sušenje/zrenje gde su hladno dimljene 3 dana uz pomoć piljevine od bukovog drveta. Uslovi temperature i relativne vlažnosti vazduha (RVV) u komori za zrenje bili su sledeći: 1–3 dana ( $23^{\circ}\text{C}$ , 90–95% RVV), 4–6 dana ( $20^{\circ}\text{C}$ , 85% RVV), 7–9 dana ( $18^{\circ}\text{C}$ , 80% RVV) i 10–35 dana ( $12\text{--}15^{\circ}\text{C}$ , 70% RVV). Uzorci čajne kobasice za analize uzeti su nakon punjenja u omotače, a zatim nakon 7, 14, 21, 28 i 35 dana sušenja. Svi uzorci transportovani su u laboratoriju na  $4^{\circ}\text{C}$  u ručnim frižiderima. Deo uzorka je vakumiran, dok je drugi deo uzorkovan u sterilne kese za zamrzivač.

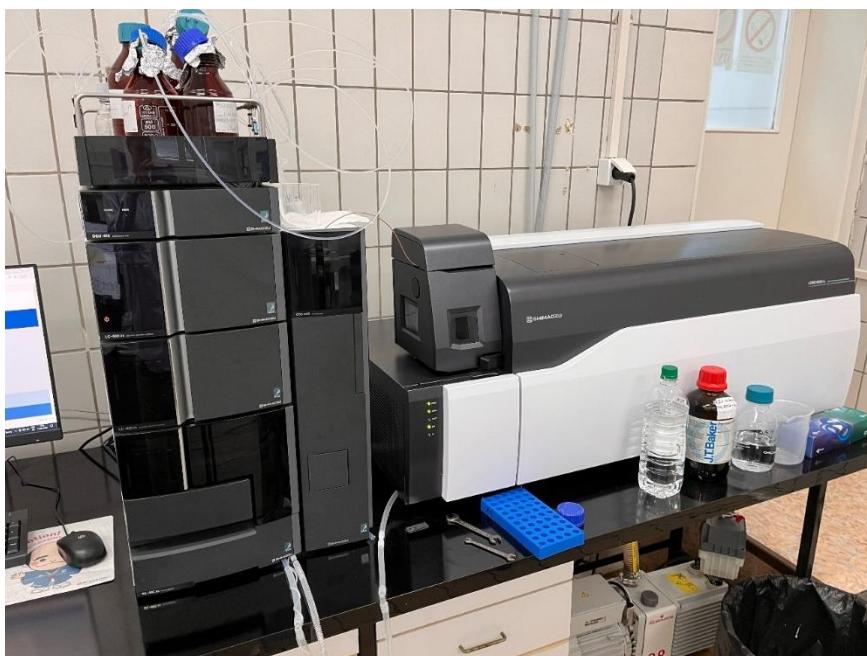
### 4.3. Fizičko-hemijske analize

#### 4.3.1. Ispitivanje osnovnog hemijskog sastava

Za određivanje sadržaj masti korišćena je metoda ISO 1443:1973, dok je sadržaj vlage u ispitivanim kobasicama određen referentnom ISO metodom 1442:1997. Sadržaj proteina, odnosno proteina, određen je metodom po Kjeldahl-u množenjem sadržaja azota sa faktorom 6,25. Za određivanje  $a_w$  vrednosti korišćen je uređaj Fast-Lab (Gbx, Romen Sir Izer, Francuska)  $a_w$  metar. Vrednost pH je određena pomoću digitalnog pH metra CyberScan pH 510 (Eutech, Singapur, Singapur). Sadržaj natrijum-hlorida (NaCl) određen je pomoću uređaja za indukovano spregnutu plazmu sa masenom spektrometrijom (ICP-MS) iCAP Q (Thermo Scientific, Voltam, MA, SAD). Dobijen sadržaj natrijuma pomnožen je sa faktorom 2,5 u cilju dobijanja sadržaja NaCl.

#### 4.3.2. Ispitivanje sadržaja biogenih amina

Ekstrakcija i kvantifikacija kadaverina, putrescina, spermina, spermidina, histamina, tiramina i triptamina izvršena je prema studiji Sagratini i sar. (2012) sa određenim izmenama. Za hromatografsko razdvajanje biogenih amina korišćen je tečni hromatograf visokih performansi sa masenom detekcijom (HPLC-MS/MS) prouzvodača Shimadzu (Kjoto, Japan) koji se sastojao iz kontrolora CBM-20A, peći CTO-20AC, dve pumpe LC-30AD, autosemplera SIL-30AC i detektora LCMS 8040 sa tri kvadripola (Slika 11).



Slika 11. HPLC-MS/MS sistem proizvođača Shimadzu

Mobilna faza A sastojala se od 10 mM amonijum-acetata u vodi, dok je kao mobilna faza B služila 0,1% mravlja kiselina u acetonitrilu. Svi reagensi korišćeni u ispitivanju bili su HPLC čistoće. Hromatografsko razdvajanje izvršeno je na koloni Purospher STAR RP-18 (Merck KGaA, Darmstadt, Nemačka) koloni dimenzija 100x2,1 mm, sa česticama veličine 2  $\mu\text{m}$ . Protok mobilnih

faza bio je 0,4 mL/min. Program gradijenta je u početnom trenutku iznosi 20% mobilne faze B, a tokom narednih 4 minuta se postepeno povećavao do udela od 80% mobilne faze B. Nakon toga, udeo mobilne faze B je opadao do 5,5 min na 20%. Injektovana zapremina bila je podešena na 5 µL. Limiti detekcije (LD) i kvantifikacije (LK) bili su sledeći (mg/kg): kadaverin (0,25 i 0,75), putrescin (0,25 i 0,75), spermin (0,35 i 1,05), spermidin (0,06 i 0,18), histamin (0,15 i 0,45), tiramin (0,25 i 0,75) i triptamin (0,15 i 0,45), redosledno.

#### 4.3.3. Ispitivanje parametara oksidacije lipida i masnokiselinskog sastava

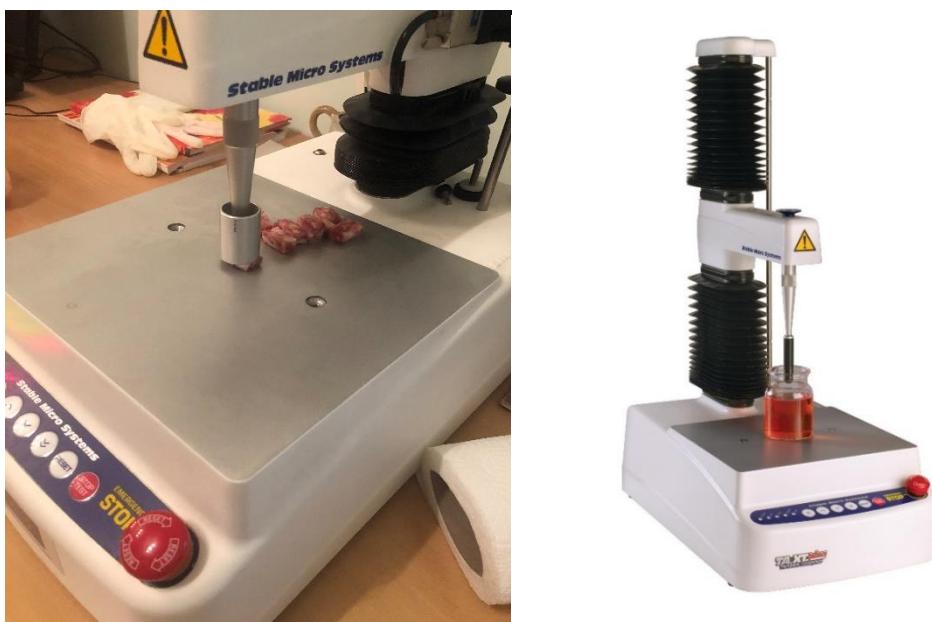
Primarni produkti oksidacije lipida praćeni su određivanjem sadržaja peroksidnog i kiselinskog broja. Peroksidni broj određen je u skladu sa referentnom ISO metodom 3960:2017. Kiselinski broj određen je takođe pomoću referentne ISO metode 660:2020 pomoću koje je moguće izračunati i sadržaj slobodnih masnih kiselina. Sa druge strane, sekundarni produkti oksidacije lipida praćeni su preko sadržaj malondialdehida u skladu sa metodom predloženom od strane Tarladgis i sar. (1964). Ekstrakcija masti i sadržaj masnih kiselina određeni su u skladu sa studijom Trbović i sar. (2013). Za određivanje masnih kiselina korišćen je gasni hromatogram GC-2010 (Shimadzu Corporation, Kjoto, Japan) sa plameno jonizacionim detektorom.

#### 4.3.4. Ispitivanje sadržaja nitrita i nitrata

Za ispitivanje sadržaja nitrita i nitrata korišćena je jonoizmenjivača hromatografija. Određivanje je izvršeno u skladu sa metodom EN 12014-4: 2005. Razdvajanje i detekcija je obavljena pomoću uređaja za jonsku hromatografiju koji se sastoji od 858 Professional Sample Processor autosamplera (Metrohm, Herisau, Švajcarska) i 930 Compact IC Flex sa pećnicom/SeS/PP sistemom koji se sastoji od pećnice, peristatičke pumpe, degasera i konduktivnog detektora (Metrohm, Herisau, Švajcarska). Za razdvajanje jona korišćena je METROSEP C4 250/4 kolona (Metrohm, Herisau, Švajcarska).

#### 4.3.5. Ispitivanje teksture

Za ispitivanje parametara tekture korišćen je analizator tekture TA.XT Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Viena Kort, UK) opremljen sa čelijom težine 50 kg i cilindričnim aluminijumskim nastavkom prečnika 25 mm (P/25). Uzorci dimenzija 1 x 1 x 2 cm (height x width x length) su sabijeni dva puta do 50% njihove visine pri brzini 60 mm/min (Slika 12).



Slika 12. TPA test Njeguške kobasice (levo) i TA.XT analizator tekture (desno)  
(<https://prime.erpnext.com/>)

Kao rezultat analize dobijene su vrednosti tvrdoće, elastičnosti, kohezivnosti, gumoznosti i žvakljivosti.

#### 4.4. Mikrobiološke analize

Ukupno 10 g svakog uzorka aseptično je prenešeno u sterilnu plastičnu kesu nakon čega je dodato 90mL peptonske vode (Oxoid, Bejingstouk, UK) i homogenizovano tokom 1 min koristeći uređaj Stomacher 400 (Seward Medical, London, UK). Nakon toga, za svaki uzorak napravljena je serija decimalnih razblaženja. Ukupan broj bakterija određen je u skladu sa metodom ISO 4833–1:2013, dok je za određivanje broja bakterija mlečne kiseline (BMK) korišćena ISO 15214:1998 metoda. Broj *Micrococcaceae* izbrojan je na manitol slanom fenol-crveno agaru (eng. Manitol Salt Phenol-Red Agar) (MSA) nakon ikubacije na 30°C tokom 48 h.

#### 4.5. Savremene metode analize

##### 4.5.1. 3D lasersko skeniranje

Uzorci čajne kobasice i kulena skenirani su pomoću EinScan-SP (Shining 3D Tech., Hangzhou, Kina) 3D skenera (Slika 13). Prema podacima proizvođača, tačnost skenera iznosi 0,03 mm, sa rastojanjem između 0,17 i 0,20 mm i brzinom skeniranja manjom od 1 minuta. Rezolucija dve kamere koje su korišćene za prikupljanje podataka je bila 1,3 megapiksela, dok je za osvetljenje uzorka korišćeno integrисано belo LED svetlo.



**Slika 13.** Glava skenera (levo) i rotirajuće postolje (desno)  
(<https://www.shining3d.com/>)

Pre svake faze uzorkovanja, skener je kalibriran korišćenjem kalibracione ploče koju je obezbedio proizvođač. U različitim vremenskim presecima, uvek su ispitivane iste cele kobasice koje su prethodno obeležene, a nakon skeniranja odmah vraćene u komoru za sušenje. Uzorci su stavljeni na rotirajuće postolje, skenirani i zatim rotirani za 90° kako bi se dobili podaci za stranu proizvoda na kojoj je proizvod u prvoj fazi skeniranja bio oslonjen. Slično studiji Vaskoska i sar. (2020), kao rezultat skeniranja svakog uzorka formirano je približno 9 miliona tačaka koje su kasnije koristile u generisanju 3D modela. Kobasice su skenirane korišćenjem režima "turntable align" dok je broj koraka rotirajućeg postolja postavljen na 50 za svaku od dve pozicije. Ukupno vreme skeniranja bilo je oko 40 minuta po uzorku. U pozadini uzorka bilo je postavljeno crno fotografsko platno kako bi skener jasno uočio granicu između pozadine i proizvoda (Slika 14). Skener je bio povezan sa nadograđenim računarom Lenovo Legion (Windows 10, procesor: intel core i5-7300HQ CPU, 2.5 GHz, 24 GB RAM memorije, grafička kartica: GeForce GTX 1050 2GB) (Slika 11). Dobijene tačake

su korišćene za generisanje 3D modela pomoću softvera EXScan S\_v3.0.0.1 (Shining 3D Tech., Hangzhou, Kina) korišćenjem visokodetaljnog i “watertight” režima, kao što su predložili (Wong i sar., 2019). Pre generisanja modela, svi detalji pozadine su odsečeni u pomenutom softveru. Relativna greška 3D skenirane zapremine u svakoj fazi analize izračunata je upoređivanjem dobijene 3D zapremine sa zapreminom dobijenom tradicionalnom volumetrijskom metodom prema preporuci (R. Zhang i sar., 2020).

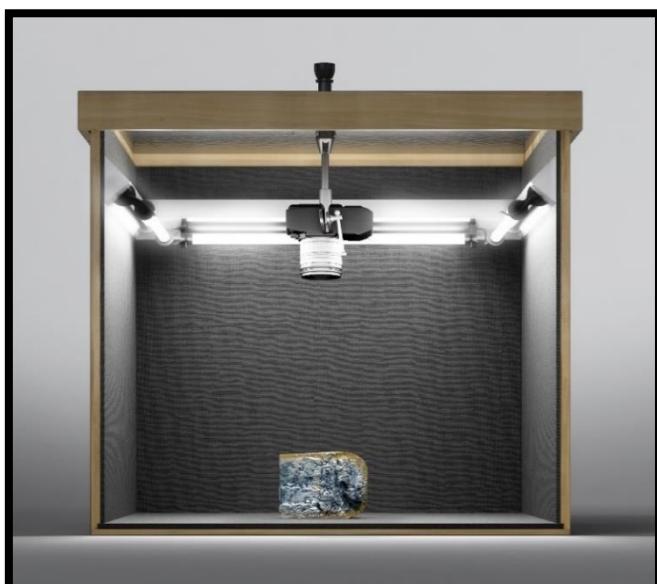


Slika 14. Skeniranje uzorka kulena

#### 4.5.2. Merenje boje – Kompjuterski vizuelni system

Svetloča ( $L^*$ ), ideo crvene boje ( $a^*$ ) i ideo žute boje ( $b^*$ ) omotača kobasica, delova mesa i masnog tkiva na preseku proizvoda mereni su nezavisno korišćenjem CVS prema Tomasevic i sar. (2019), uz izvesne izmene. Unutrašnjost CVS kutije bila je obložena fotografskim platnom, dok su četiri LED lampe korišćene za osvetljenje kutije i uzorka (Slika 15). Kamera (Sony Alpha DSLR-A200)

korišćena je za fotografisanje uzoraka. Pre svake analize kamera je kalibrirana pomoću X-Rite Colorchecker Passport (X-Rite, Grand Rapids, Mičigen, SAD) pločice za kalibraciju koja se sastoji iz 24 boje. Fotografisanje je obavljeno pomoću daljinskog upravljača koji se nalazio izvan CVS kutije a bio je povezan sa fotoaparatom putem kabla. Na taj način uticaj dnevnog svetla bio je eliminisan. U slučaju sva tri tipa ispitivanih kobasicica, kobasice su prvo izvađene iz vakuum pakovanja nakon čega je prvo fotografisana njihova površina. Kobasicice su postavljene na beli papir formata A4 na kom su hemijskom olovkom obeležene pozicije uzorka. Obeležen papir sa uzorcima postavljen je na belu plastičnu dasku koja je unešena u CVS kutiju gde su uzorci fotografisani. Nakon toga fotografisan je poprečni presek svakog od uzorka što je obavljeno sečenjem uzorka na nareske. Zbog



Slika 15. Prikaz CVS kutije (Milovanovic i sar., 2021)

poprečni presek svakog od uzorka što je obavljeno sečenjem uzorka na nareske. Zbog

transparentnosti mesa kao medijuma neophodno je bilo seći nareske kobsica debljine od oko 10 mm kako ne bi došlo do greške u merenju. Slike omotača i poprečnog preseka kobasice su kasnije korišćene za dobijanje parametara boje pomenutih delova korišćenjem Adobe Photoshop 2020 (Adobe, San Jose, Kalifornija, SAD). Kobasice su nakon vađenja iz frižidera temperirane u trajanju od 1h na sobnoj temperaturi. Vreme između sečenja kobasice i fotografisanja bilo je manje od 30 sekundi.

#### 4.5.3. Oralno procesiranje

Analiza oralnog procesiranja sprovedena je u skladu sa preporukama Djekic i sar. (2020), uz izvesne izmene. U testu je učestvovalo ukupno osam potrošača kojima su servirane porcije od oko 200 g kulena i čajne kobasice iz svake serije. U slučaju ispitivanja kulena, potrošači su zamoljeni da kuhinjskim nožem iseku tri nareska kobasice kao što bi to uradili u kućnim uslovima. Sa druge strane, prilikom ispitivanja parametara oralnog procesiranja čajne kobasice, potrošačima su servirane prethodno isečene nareske čajne kobasice debljine od oko 5 mm. U oba slučaja, servirane porcije su izmerene pre i nakon konzumacije kako bi se izračunala konzumirana masa prosečnog zalogaja (g). Tokom kompletne analize potrošače je snimala video kamera, a dobijene video materijale analizirala su dva istraživača u cilju dobijanja što preciznijih rezultata merenja. Parametri dobijeni metodom oralnog procesiranja bili su sledeći:

- broj zagrižaja
- vreme konzumiranja jednog zalogaja (s)
- brzina žvakanja (broj zagrižaja/s)
- brzina konzumacije (g/s)
- masa prosečnog zalogaja (g).
- stopa unosa masti (g masti/s) (čajna kobasica)

Stopa unosa masti dobijena je pomoću rezultata fizičko-hemijskog ispitivanja sadržaja masti i preračunavanja sa brzinom konzumacije (g/s).

#### 4.5.4. Privremena dominacija senzacija

TDS analiza sprovedena je prema studiji Djekic i sar. (2021), uz izvesne izmene. Senzacije su odabrane u skladu sa dostupnim podacima iz literature i u skladu sa tipom ispitivanog proizvoda. Odabранe senzacije koje su potrošači bili u mogućnosti da izaberu bili su:

- tvrdoća
- ukus mesa
- sočnost
- mekoća
- masnoća
- ukus paprike
- pikantnost

Svaki od šest potrošača dobio tri nareska kobasica debljine 5 mm iz svake serije. Oni su dobili instrukcije da kliknu dugme START na tabletu za početak u trenutku prvog zalogaja i da kliknu dugme za zaustavljanje u trenutku gutanja. Tokom analize potrošači su bili slobodni da izaberu najdominantniju senzaciju u svakom trenutku. Odabir jedne iste senzacije više puta tokom konzumacije bio je dozvoljen.

#### **4.6. Senzorna analiza**

U deskriptivnom senzornom ispitivanju Njeguške i čajne kobasice učestvovalo je osam i dvanaest iskusnih ocenjivača, redosledno. Ocenzivači su obučavani tokom 3 meseca u skladu sa standardom ISO 8586:2012. Pre ispitivanja, održani su uvodni sastanci na kojima su ocenjivači diskutovali o parametrima koje treba obuhvatiti. Na kraju sastanka, ocenjivači su izabrali parametre za Njegušku i čajnu kobasicu. Poseban sastanak održan je prilikom definisanja senzornih parametara Njeguške i čajne kobasice. U slučaju Njeguške kobasice, svojstva su bila grupisana prema teksturi (elastičnost, sočnost, suvoća i tvrdoća), mirisu (crni biber, beli luk, dim i mlečna kiselina), ukusu (slanost i kiselost) i izgledu (povezanost mesa i masnog tkiva, količina masnog tkiva i distribucija masnog tkiva). Što se tiče čajne kobasice izabrani parametri bili su: količina masnog tkiva, povezanost mesa i masnog tkiva, distribucija masnog tkiva, količina mesa, naboranost površine, tvrdoća, sočnost, suvoća, elastičnost, kiselost, slasnost, aroma crnog bibera, dima, belog luka i mlečne kiseline. Tokom ispitivanja ocenjivačima su bili dostupni i drugi proizvodi u tipu fermentisanih kobasicica kako bi mogli što bolje da porede definisane attribute. Svi parametri su ocenjeni koristeći Likertovu skalu sa 9 nivoa. Za ispiranje između uzoraka korišćene su sveže jabuke i voda. U uzorcima čajne kobasice koji su bili podvrgnuti zrenju 28 i 35 dana ispitivani su i sledeći parametri: boja, aroma, uskus, konzistencija i ukupna prihvativost. Za ispitivanje skorišćena je skala intenziteta i na osnovu iste formirani su grafikoni intenziteta definisanih senzornih atributa (engl. spider web).

#### **4.7. Statistička obrada rezultata**

Za obradu dobijenih rezultata i izračunavanje srednjih vrednosti, standardne devijacije, standardne greške, ispitivanje normalne raspodele i hemogenosti varijanse korišćen je statistički paket SPSS 23.0 (IBM, Armonk, NY, SAD). Za ispitivanje razlike između srednih vrednosti korišćena je jednofaktorska analiza varijanse, a kao post-hok test korišćen je Tukeyev test. Za izračunavanje procenata prilikom obrade podataka anketa korišćen je MS Excel (Microsoft, Redmond, WA, SAD).

## 5. REZULTATI I DISKUSIJA

### 5.1. Rezultati ispitivanja kulena

#### 5.1.1. Anketa

Popularnost kulena među potrošačima u Srbiji potvrdili su rezultati anketa u kojoj je 27,4% učesnika navelo kulen kao svoj prvi izbor prilikom kupovine fermentisanih kobasicica, dok je 32,3% anketiranih potrošača kulen navelo kao drugi izbor. Ukupno 516 učesnika (60,4%) identifikovalo je nitrite kao potencijalno kancerogene, dok 39,6% ispitanika nije sigurno da li su nitriti štetni ili ih ne smatra kancerogenim. Međutim, za većinu (66,5%) učesnika važno je da kobasica sadrži najmanju moguću količinu aditiva, dok je 73,3% njih izjavilo da bi radije kupilo kobasicice proizvedene bez aditiva čak i ako je njihov kvalitet u određenoj meri narušen.

#### 5.1.2. Hemijska analiza

Sadržaj nitrita značajno se razlikovao između kobasicica različitih šarži u prvih šesnaest dana sušenja, pri čemu je primećeno postepeno smanjenje u njihovom sadržaju (Tabela 2 i 3). Prema Christieans i sar. (2018), nitriti reaguju brzo, zbog čega njihov sadržaj opada za više od 50% tokom prvog dana proizvodnje, dok je na kraju zrenja njihov sadržaj uglavnom ispod 10 mg/kg. Ovo zapažanje je potvrđeno u našem eksperimentu u kom je sadržaj nitrita u drugoj polovini zrenja iznosio oko 0,9 mg/kg kada nisu uočene značajne ( $P < 0,01$ ) razlike u njihovom sadržaju među kobasicama iz različitih serija. Sa druge strane, sadržaj nitrata bio je sličan tokom prvih šesnaest dana zrenja. Nakon toga, tokom 24. i 32. dana zrenja sadržaj nitrata u kobasicama iz N110 serije bio je značajno ( $P < 0,01$ ) viši od onog nađenog u kobasicama proizvedenih bez upotrebe nitrita. Razlog za to može biti u oksidaciji nitrita u nitrate koja se odvija kao posledica zaostalog kiseonika u kobasici (Eisinaité i sar., 2020). U crvenoj začinskoj paprici koja je korišćena u našem eksperimentu nađeno je 505 mg/kg nitrata. U Evropskoj Uniji, maksimalan sadržaj nitrita i nitrata koji se mogu dodati proizvodima od mesa propisan je u Regulativi 1333/2008. Prema ovoj regulativi, maksimalan sadržaj nitrita i nitrata koji se mogu dodati fermentisanim kobasicama iznosi po 150 mg/kg. Važno je naglasiti da je Danska uspela da primeni nacionalni pravilnik koji je dosta strožiji od evropskog, a prema kome je u fermentisane kobasicice dozvoljeno dodati maksimalno po 100 mg/kg nitrata i nitrita. Studija Nacionalni Institut za hranu Tehničkog Univerziteta Danske uspela je da dokaže da su koncentracije od po 100 mg/kg nitrata i nitrita dovoljne da ostvare pozitivne efekte po kvalitet i bezbednost fermentisanih kobasicica.

Smanjenje sadržaja nitrita nije imalo značajan ( $P < 0,01$ ) uticaj na  $a_w$  vrednost i sadržaj vlage u kulenu. Konačna  $a_w$  vrednost kobasica iznosila je oko 0,86 što je niže od vrednosti prijavljenih od strane X. Hospital i sar. (2016) koji su otkrili da smanjenje sadržaja nitrita, kao i njihovo potpuno izbacivanje iz formulacije fermentisane suve kobasice ne utiče na bezbednost kobasice u ispitivanim uslovima u pogledu *C. Botulinum*. Razlog za to se najverovatnije nalazi u tzv. „tehnologiji prepreka” tj. sinergijskom efektu konzervisanja u prvom redu sušenja i fermentacije, ostvarivanjem niske  $a_w$  i pH vrednosti. Pored toga, ne treba izostaviti uticaj prisustva antimikrobnih jedinjenja poreklom iz dima i začina. Skup svih ovih faktora doprinosi formiranju nepovoljnih uslova za rast i razvoj patogenih mikroorganizama.

Sadržaj vlage postepeno je opao tokom zrenja u kobasicama iz svih ispitivanih serija, pokazujući jaku korelionu zavisnost ( $P < 0,01$ ) sa  $a_w$  ( $r=0,97$ ) vrednošću. Finalni sadržaj vlage bio je sličan onom prijavljenom od strane drugih autora za fermentisane suve kobasicice (Lorenzo i Franco, 2012; Lorenzo i sar., 2012). Na kraju sušenja, sadržaj vlage u kobasicama iz sve tri šarže bio je manji od 35% što je jedan od uslova Pravilnika o kvalitetu usitnjelog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019).

Sadržaj slobodnih masnih kiselina povećao se tokom proizvodnje u kobasicama iz sve tri serije (Tabela 12 i 13). Analiza varijanse pokazala je da je kulen proizveden bez dodatka nitritne soli (NF) sadržao značajno ( $P < 0.01$ ) više slobodnih masnih kiselina u odnosu na kobasice proizvedene sa dodatkom 110 mg/kg (N110) i 55 mg/kg (N55) NaNO<sub>2</sub>. Razlog za ovo može biti u izraženijoj aktivnosti lipaza u kulenu iz NF serije. Tokom sušenja dolazi do oslobođanja slobodnih masnih kiselina iz triglicerida i fosfolipida, kao posledica hidrolize pomoću lipaza. Niži sadržaj slobodnih masnih kiselina u kobasicama iz serija N110 i N55 može biti objašnjen antioksidativnim mehanizmom nitrita koji uključuje vezivanje azot oksida za gvožđe iz hema ili za neki drugi prelazni metal za čije prisustvo je utvrđeno da povećava proizvodnju lipaza od strane bakterija (Hierro i sar., 1997; Karwowska i sar., 2019; Wójciak i sar., 2019). Prema Hertadi i Widhyastuti (2015), prisustvo određenih metalnih jona koji se prirodno nalaze u mesu može povećati aktivnost pojedinih lipaza. U kobasicama prizvedenim bez dodatka nitrita, pH vrednost bila je najviša među analiziranim serijama, što je najблиže optimalnim vrednostima za aktivnost velikog broja lipaza (Abdel-Hamied M. i sar., 2017; Mahmoud i sar., 2015).

### 5.1.3. pH vrednost

Vrednost pH je relativno brzo pala u svim ispitivanim serijama kulena sa početnih vrednosti od oko 5,45 do 5,00 tokom prvih osam dana zrenja (Tabela 2 i 3). Kao razlog sa smanjenje pH vrednosti u literaturi se najčešće navodi akumulacija organskih kiselina, u prvom redu mlečne kiseline, proizvedene tokom fermentacije od strane bakterija (Christieans i sar., 2018; X. Hospital i sar., 2016; Simunovic i sar., 2019). Za razliku od Njeguške kobasice, u proizvodnji kulena za potrebe ove doktorske disertacije korišćene su starter kulture. Kao supstrat za fermentaciju, u nadev kulena dodata je dekstroza, što je u kombinaciji sa povišenim temperaturama u klima komori obezbedilo optimalne uslove za razmnožavanje i produkciju mlečne kiseline od strane BMK. Najniža pH (4,90) primećena je na 24. danu sušenja, nakon čega se postepeno povećala do vrednosti od oko 5,0 na kraju procesa proizvodnje. Šablon kretanja pH tokom zrenja bio je sličan kao i u drugim fermentisanim suvim kobasicama (Christieans i sar., 2018; X. Hospital i sar., 2016; Simunovic i sar., 2021).

Vrednosti pH na kraju procesa proizvodnje u sve tri serije kulena kretale su se u intervalu karakterističnom za kobasice proizvedene sa dodatkom starter kultura koje su bile podvrgnute sušenju i zrenju u kontrolisanim uslovima temperature i RVV. Najniža pH vrednost izmerena je za kobasice iz serije N110, tj. u kobasicama prizvedenim sa dodatkom 110 mg/kg NaNO<sub>2</sub>. Rezultati merenja pH podudaraju se sa sadržajem biogenih amina kako se njihov nastanak dovodi u vezu sa rastom vrednosti pH u drugoj fazi procesa proizvodnje.

Rezultati merenja pH vrednosti kulena podudaraju se sa rezultatima objavljenim od strane Pennisi i sar. (2020) koji su prijavili značajno niže vrednosti pH u kobasicama prizvedenim sa dodatkom 150 mg/kg nitrita u poređenju sa pH vrednostima za kobasice proizvedene bez nitrita. Zahtev Pravilnika o kvalitetu usitnjenoj mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa jeste da pH vrednost fermentisanih kobasica mora biti jednaka ili veća od 5,0 („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019). Ovaj zahtev Pravilnika nisu ispunile samo kobasice iz serije N110 čija je krajnja pH vrednost iznosila 4,95. Kako tokom procesa zrenja i tokom skladištenja dolazi do proteolitičkih reakcija koje utiču na porast pH vrednosti, očekuje se da se tokom skladištenja pH vrednost poveća iznad 5,0.

**Tabela 2.** Promena hemijskih parametara u uzorcima kulena proizvedenim sa različitim sadržajem nitrita tokom prve polovine proizvodnog procesa (srednja vrednost ± standardna devijacija).

	Vreme zrenja (dani)								
	0			8			16		
	N110	N55	NF	N110	N55	NF	N110	N55	NF
Nitriti (mg/kg)	90,20±8,48 <sup>1a</sup>	49,10±5,63 <sup>2a</sup>	0,70±0,17 <sup>3a</sup>	38,35±3,26 <sup>1b</sup>	28,50±2,43 <sup>2b</sup>	0,83±0,24 <sup>3a</sup>	21,15±0,17 <sup>1c</sup>	4,50±0,41 <sup>2c</sup>	0,80±0,17 <sup>3a</sup>
Nitrati (mg/kg)	6,43±0,21 <sup>1a</sup>	6,53±0,28 <sup>1a</sup>	6,32±0,16 <sup>1a</sup>	6,39±0,54 <sup>1a</sup>	6,48±0,42 <sup>1a</sup>	6,18±0,02 <sup>1a</sup>	7,43±0,33 <sup>1b</sup>	7,16±0,50 <sup>1ab</sup>	6,22±0,02 <sup>1a</sup>
pH	5,47±0,00 <sup>1a</sup>	5,43±0,01 <sup>1a</sup>	5,48±0,00 <sup>1a</sup>	5,03±0,01 <sup>1b</sup>	5,00±0,02 <sup>1b</sup>	5,04±0,01 <sup>1b</sup>	4,90±0,00 <sup>1c</sup>	4,95±0,01 <sup>2bc</sup>	4,96±0,01 <sup>2c</sup>
a <sub>w</sub>	0,945±0,00 <sup>1a</sup>	0,947±0,00 <sup>1a</sup>	0,956±0,01 <sup>1a</sup>	0,929±0,00 <sup>1b</sup>	0,933±0,01 <sup>1b</sup>	0,929±0,01 <sup>1b</sup>	0,923±0,00 <sup>1c</sup>	0,920±0,01 <sup>12c</sup>	0,918±0,01 <sup>2b</sup>
Sadržaj vlage (%)	58,21±0,58 <sup>1a</sup>	56,01±0,12 <sup>2a</sup>	57,56±0,56 <sup>1a</sup>	52,91±0,28 <sup>1b</sup>	51,65±0,35 <sup>2b</sup>	51,87±0,34 <sup>12b</sup>	46,45±0,17 <sup>1c</sup>	44,83±0,96 <sup>2c</sup>	45,29±0,16 <sup>2c</sup>
Kalo sušenja (%)				19,72±0,35 <sup>1a</sup>	19,68±0,69 <sup>1a</sup>	19,76±0,60 <sup>1a</sup>	28,44±0,42 <sup>1b</sup>	27,99±0,66 <sup>1b</sup>	28,11±0,26 <sup>1b</sup>
Sadržaj slobodnih masnih kiselina (mg/g masti)	1,04±0,04 <sup>1a</sup>	1,02±0,2 <sup>1a</sup>	0,71±0,01 <sup>2a</sup>	1,11±0,02 <sup>1a</sup>	0,99±0,02 <sup>2a</sup>	1,24±0,04 <sup>3b</sup>	2,79±0,01 <sup>1b</sup>	2,61±0,02 <sup>2b</sup>	2,87±0,02 <sup>3c</sup>

N110 – 110 mg/kg NaNO<sub>2</sub>; N55 – 55 mg/kg NaNO<sub>2</sub>; NF – bez nitrita;<sup>1-3</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istom danu zrenja) koje nisu praćene istim brojevima su statistički značajno različite (P<0,01)<sup>a-f</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istoj seriji) koje nisu praćene istim slovima su statistički značajno različite (P<0,01)

**Tabela 3.** Promena hemijskih parametara u uzorcima kulena proizvedenim sa različitim sadržajem tokom druge polovine proizvodnog procesa (srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija).

	Vreme zrenja (dani)								
	24			32			40		
	N110	N55	NF	N110	N55	NF	N110	N55	NF
Nitriti (mg/kg)	0,86 $\pm$ 0,13 <sup>1d</sup>	0,82 $\pm$ 0,26 <sup>1d</sup>	0,82 $\pm$ 0,28 <sup>1a</sup>	0,82 $\pm$ 0,36 <sup>1d</sup>	0,85 $\pm$ 0,32 <sup>1d</sup>	0,80 $\pm$ 0,31 <sup>1a</sup>	0,83 $\pm$ 0,28 <sup>1d</sup>	0,81 $\pm$ 0,32 <sup>1d</sup>	0,84 $\pm$ 0,63 <sup>1a</sup>
Nitrati (mg/kg)	7,97 $\pm$ 0,06 <sup>1b</sup>	7,39 $\pm$ 0,02 <sup>12ab</sup>	6,60 $\pm$ 0,02 <sup>2a</sup>	7,96 $\pm$ 0,03 <sup>1b</sup>	7,77 $\pm$ 0,04 <sup>12b</sup>	6,56 $\pm$ 0,03 <sup>2a</sup>	7,84 $\pm$ 0,04 <sup>1b</sup>	6,89 $\pm$ 0,02 <sup>1ab</sup>	7,01 $\pm$ 0,02 <sup>1a</sup>
pH	4,87 $\pm$ 0,00 <sup>1d</sup>	4,91 $\pm$ 0,01 <sup>2c</sup>	4,92 $\pm$ 0,01 <sup>2d</sup>	4,92 $\pm$ 0,00 <sup>1e</sup>	4,94 $\pm$ 0,01 <sup>2bc</sup>	4,94 $\pm$ 0,00 <sup>2cd</sup>	4,95 $\pm$ 0,00 <sup>1f</sup>	5,01 $\pm$ 0,01 <sup>2b</sup>	5,03 $\pm$ 0,01 <sup>2be</sup>
a <sub>w</sub>	0,898 $\pm$ 0,00 <sup>1d</sup>	0,897 $\pm$ 0,01 <sup>2d</sup>	0,904 $\pm$ 0,01 <sup>1bc</sup>	0,883 $\pm$ 0,00 <sup>1e</sup>	0,877 $\pm$ 0,00 <sup>2e</sup>	0,878 $\pm$ 0,01 <sup>2cd</sup>	0,865 $\pm$ 0,00 <sup>1f</sup>	0,867 $\pm$ 0,00 <sup>1f</sup>	0,867 $\pm$ 0,00 <sup>1d</sup>
Sadržaj vlage (%)	43,26 $\pm$ 0,16 <sup>1d</sup>	40,63 $\pm$ 0,48 <sup>2d</sup>	43,05 $\pm$ 0,04 <sup>1d</sup>	38,01 $\pm$ 0,91 <sup>1e</sup>	36,95 $\pm$ 0,38 <sup>1e</sup>	38,07 $\pm$ 0,18 <sup>1e</sup>	34,58 $\pm$ 0,32 <sup>1f</sup>	33,79 $\pm$ 0,17 <sup>1f</sup>	34,19 $\pm$ 0,19 <sup>1f</sup>
Kalo sušenja (%)	31,58 $\pm$ 0,53 <sup>1c</sup>	31,27 $\pm$ 0,16 <sup>1c</sup>	31,85 $\pm$ 0,23 <sup>1c</sup>	36,15 $\pm$ 0,11 <sup>1d</sup>	35,84 $\pm$ 0,75 <sup>1d</sup>	35,72 $\pm$ 0,14 <sup>1d</sup>	37,53 $\pm$ 0,35 <sup>1e</sup>	36,91 $\pm$ 0,89 <sup>1d</sup>	37,13 $\pm$ 0,16 <sup>1e</sup>
Sadržaj slobodnih masnih kiselina (mg/g masti)	2,94 $\pm$ 0,01 <sup>1c</sup>	2,66 $\pm$ 0,03 <sup>2b</sup>	3,03 $\pm$ 0,03 <sup>3d</sup>	3,89 $\pm$ 0,01 <sup>1d</sup>	3,00 $\pm$ 0,02 <sup>2c</sup>	4,99 $\pm$ 0,01 <sup>3e</sup>	3,66 $\pm$ 0,02 <sup>1e</sup>	3,56 $\pm$ 0,05 <sup>1d</sup>	4,13 $\pm$ 0,05 <sup>2f</sup>

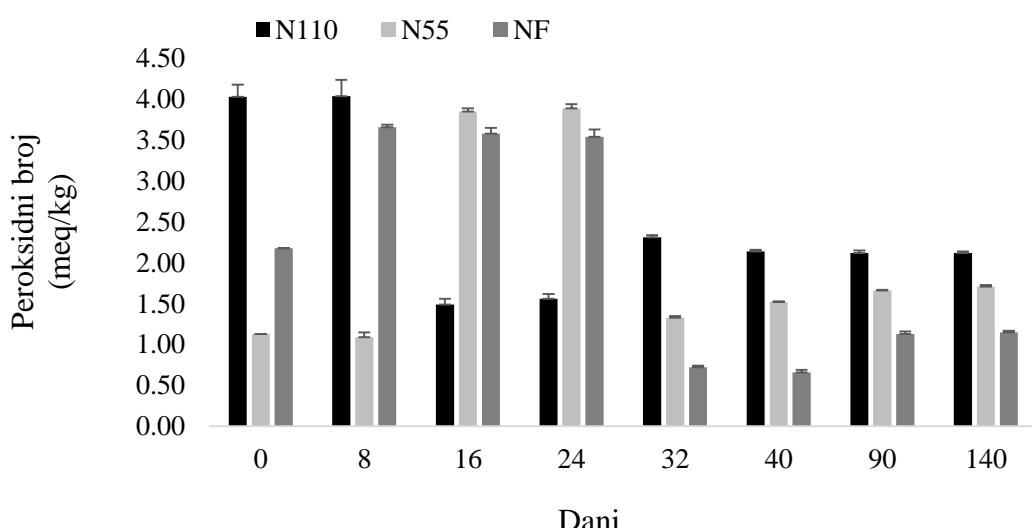
N110 – 110 mg/kg NaNO<sub>2</sub>; N55 – 55 mg/kg NaNO<sub>2</sub>; NF – bez nitrita;

<sup>1-3</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istom danu zrenja) koje nisu praćene istim brojevima su statistički značajno različite ( $P<0,01$ )

<sup>a-f</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istoj seriji) koje nisu praćene istim slovima su statistički značajno različite ( $P<0,01$ )

### 5.1.4. Oksidativna stabilnost

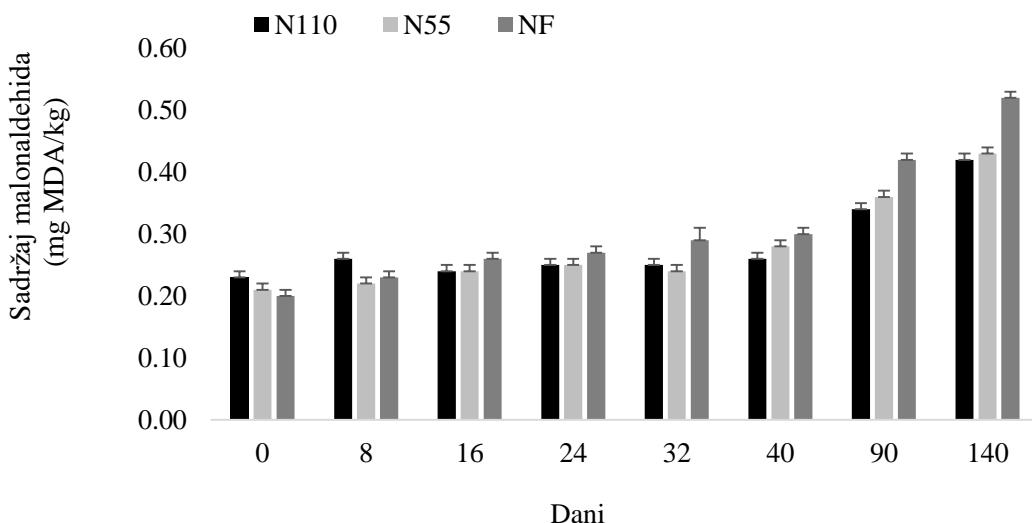
Primarni produkti oksidacije lipida praćeni su određivanjem peroksidne vrednosti kao indikatora formiranja peroksidnih i hidroperoksidnih grupa. Na kraju zrenja i skladištenja utvrđeno je da se vrednosti peroksidnog broja značajno razlikuju ( $P < 0,01$ ) među ispitivanim serijama kulena, a najviše kod kobasicica serije N110 (Grafik 2). Oksidacija lipida je najčešći defekt kvaliteta kada su u pitanju sušeni proizvodi od mesa jer dovode do razvoja užeglog ukusa i promene boje proizvoda. Nivo sekundarnih produkata oksidacije lipida praćen je određivanjem sadržaja malonaldehida, koji se postepeno povećava tokom zrenja i skladištenja (Grafik 3). Značajno niži sadržaj malonaldehida utvrđen je u kobasicama formulisanim sa  $\text{NaNO}_2$  (N110 i N55) u odnosu na onaj nađen za kulen proizveden bez upotrebe nitritnih soli (NF). Razlog za ovo se nalazi u sposobnosti azot okisda da veže i inhibira jone gvožđa koji deluju kao katalizatori razlaganja hidroperoksida na hidroksi i peroksi radikale (Revilla i Vivar-Quintana, 2004). Rezultati ove disertacije su u skladu sa rezultatima istraživanja Berardo i sar. (2016) i Karwowska i sar. (2019), koji su proučavali efekat smanjenja sadržaja nitrita na oksidaciju lipida kod fermentisanih i kuvenih kobasicica. Autori su otkrili značajno veći sadržaj malonaldehida u kobasicama proizvedenim bez upotrebe nitrita u odnosu na kobasicice proizvedene uz dodatak 150 mg/kg  $\text{NaNO}_2$ , što ukazuje na snažno antioksidativno dejstvo nitrita. Međutim, rezultati ovog eksperimenta nisu bili u potpunoj saglasnosti sa rezultatima koje su prijavili Karwowska i sar. (2019), koji su otkrili značajne razlike između sadržaja malonaldehida za kobasicice formulisane sa 50 i 100 mg/kg  $\text{NaNO}_2$ .



**Grafik 2.** Vrednosti sadržaja peroksidnog broja (meq/kg) u kulenu proizvedenom sa različitim sadržajem nitrita tokom proizvodnje i skladištenja.

Rezultati ovog eksperimenta nisu ukazali na značajne ( $P < 0,01$ ) razlike između kobasicica tretiranih sa 110 mg/kg  $\text{NaNO}_2$  (N110) i onih tretiranih sa 55 mg/kg  $\text{NaNO}_2$  (N55) u pogledu sadržaja malonaldehida. Važno je istaći značaj redukcije nitrata iz paprike u nitrite tokom zrenja, što uz antioksidativno delovanje karotenoida poreklom iz paprike obezbeđuje dodatno antioksidativno dejstvo u kulenu. Studija Revilla i Vivar-Quintana (2004) otkrila je da se sa povećanjem sadržaja paprike u formulaciji kobasicica smanjuje sadržaj malonaldehida. U skladu sa tim, vrednosti sadržaja malonaldehida pronađene u ovoj studiji za kulen niže su od onih koje navode autori za različite

fermentisane suve kobasice proizvedene bez dodatka crvene mlevene začinske paprike (Kurt i Zorba, 2009; Ozaki, Santos, i sar., 2021; Tang i sar., 2021).



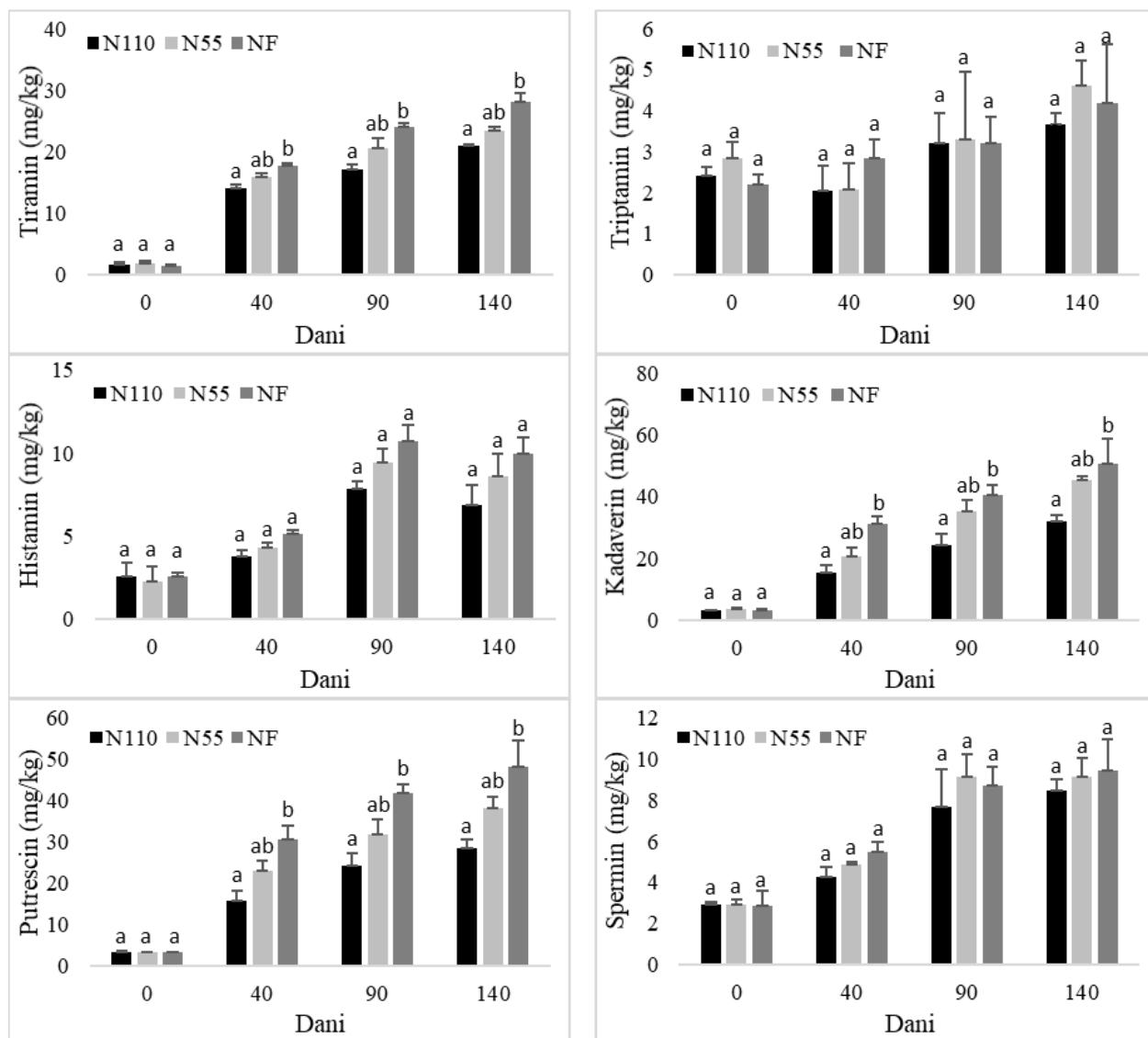
**Grafik 3.** Vrednosti sadržaja malonaldehida (mg MDA/kg) u kulenu proizvedenom sa različitim sadržajem nitrita tokom proizvodnje i skladištenja.

### 5.1.5. Biogeni amini i mikrobiološka analiza

Kao što je prethodno pomenuto, povećanje pH vrednosti tokom zrenja je najverovatnije posledica proteolize i formiranja peptida, amonijaka, aminokiselina i biogenih amina iz proteina. Sadržaj biogenih amina predstavlja važan parametar u pogledu bezbednosti hrane, jer neki od njih mogu imati štetan uticaj po ljudsko zdravlje (EFSA, 2011). Biogeni amini nastaju dekarboksilacijom aminokiselina uz pomoć dekarboksilaza. Kako su dekarboksilaze su najčešće porekлом iz bakterija, Tasić i sar. (2012) predložili su upotrebu sadržaja biogenih amina kao indikatora higijenskih uslova tokom prerade mesa. Prema EFSA (2011), visoke koncentracije histamina u hrani mogu izazvati simptome kao to su crvenilo, urtikarija, hipotenzija, glavobolja, tahikardija, grčevi u abdomenu, dijareja, povraćanje, svrab, oralna senzacija topote, mučnina i otok jezika. Sadržaj tiramina, triptamina, histamina, kadaverina, putrescina i spermina postepeno se povećavao tokom procesa sušenja u kobasicama iz sve tri proizvodne serije (Grafik 4).

Smanjenje sadržaja nitrita značajno ( $P < 0,01$ ) je uticalo povećanje sadržaja putrescina, kadaverina i tiramina u kulenu. Stoga, kulan proizveden bez dodatka nitritne soli (NF) sadržao je značajno ( $P < 0,01$ ) više vrednosti putrescina, kadaverina i tiramina u poređenju sa kulanom formulisanim sa 110 mg/kg NaNO<sub>2</sub>. Sa druge strane, analiza varijanse nije pokazala značajne razlike između sadržaja putrescina, kadaverina i tiramina u kulanu formulisanom sa 55 mg/kg NaNO<sub>2</sub> i kulanu u koji je dodato 110 mg/kg NaNO<sub>2</sub>. Slično prethodnom, razlike u sadržaju pomenutih biogenih amina nisu bile značajne ( $P < 0,01$ ) između kulena formulisanog sa 55 mg/kg NaNO<sub>2</sub> i kulanu proizvedenog bez nitrita. Vrednosti pH kobasica pokazale su jaku negativnu korelaciju ( $P < 0,01$ ) sa sadržajem tiramina ( $r=-0,78$ ), triptamina ( $r=-0,77$ ), histamina ( $r=-0,87$ ), kadaverina ( $r=-0,89$ ), putrescina ( $r=-0,96$ ) i spermina ( $r=-0,64$ ).

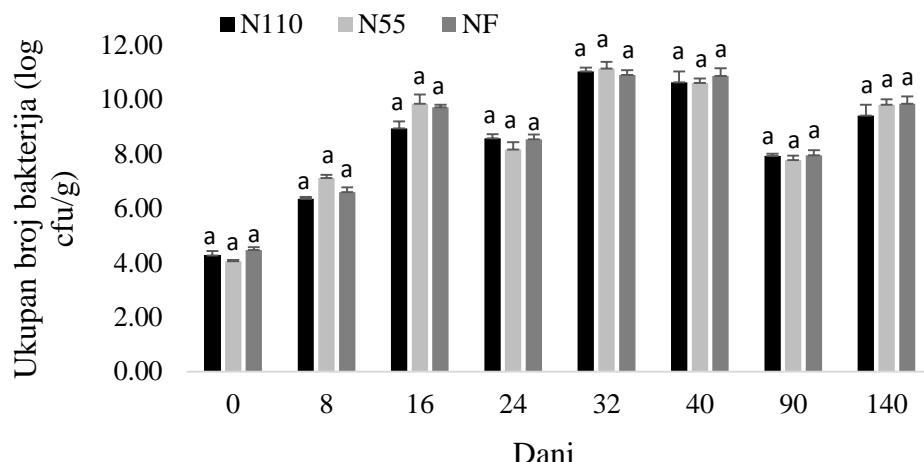
Rezultati ispitivanja biogenih amina u kulenu su u saglasnosti sa rezultatima objavljenim od strane Kurt i Zorba (2009) koji su primetili da se nastanak kadaverina i tiramina značajno ( $P < 0,01$ ) smanjio sa povećanjem sadržaja nitrita u suvim kobasicama. Iako su Kurt i Zorba (2009) prijavili niži sadržaj putrescina u kobasicama proizvedenim sa dodatkom nitrita u odnosu na one kobasice formulisane bez nitrita, ove razlike nisu bile statistički značajne.



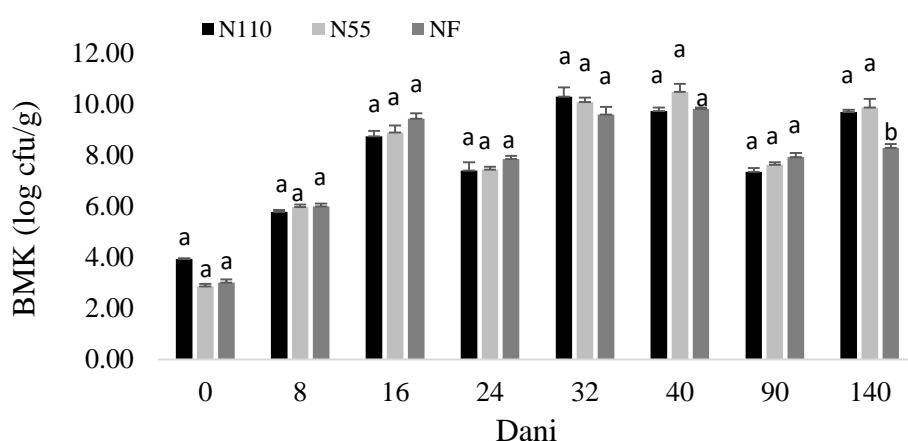
**Grafik 4.** Promena sadržaja šest biogenih amina (mg/kg) tokom sušenja u uzorcima kulena proizvedenim sa različitim sadržajem nitrita.

Studija Steinberger i Westheimer (1951) otkrila je da prisustvo određenih katjona ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  i  $\text{Cu}^{2+}$ ) povećava aktivnost dekarboksilaza prilikom dekarboksilacije aminokiselina. Zbog toga, niži sadržaj biogenih amina u kobasicama koje sadrže nitrite može biti objašnjen istim mehanizmom koji nitriti ispoljavaju prilikom sprečavanja oksidacije lipida (Karwowska i sar., 2019). Vezivanje azot oksida sa ovim katjonima moglo je uticati na smanjenu aktivnost enzima što posledično dovodi do formiranja manjeg broja biogenih amina u kobasicama koje sadrže nitrite (N110 i N55). Značajne ( $P < 0,01$ ) razlike u sadržaju biogenih amina nisu primećene između kobasica iz serija N110 i N55. Ovi rezultati ukazuju da je dodatak 55 mg/kg  $\text{NaNO}_2$  bio dovoljan da obezbedi nizak sadržaj biogenih amina.

Kako biogeni amini nastaju dekarboksilacijom aminokiselina pomoću dekarboksilaza prisutnih u pojedinim sojevima bakterija, njihov povećan sadržaj često se dovodi u vezu sa povećanim brojem ukupnog broja bakterija, broja BMK, *Enterobacteriaceae* i enterokoka (Kurt i Zorba, 2009). U prilog ovom govore rezultati ispitivanja korelacijske između broja bakterija i sadržaja biogenih amina. Ukupan broj bakterija pokazao je veoma jaku korelaciju ( $P < 0,01$ ) sa sadržajem tiramina ( $r=0,80$ ), takođe jaku korelaciju sa sadržajem kadaverina ( $r=0,60$ ) i putrescina ( $r=0,66$ ) i umerenu sa sadržajem spermina ( $r=0,48$ ) i histamina ( $r=0,41$ ) (Grafik 13). Veoma sličan trend imao je i broj BMK koji je pokazao još jaču korelaciju ( $P < 0,01$ ) sa sadržajem tiramina ( $r=0,82$ ), jaku sa nivoima kadaverina ( $r=0,65$ ) i putrescina ( $r=0,71$ ), umerenu sa sadržajem spermina ( $r=0,48$ ) i histamina ( $r=0,46$ ). U eksperimentu u okviru ove doktorske disertacije ukupan broj bakterija i broj BMK praćeni su u osam vremenskih preseka, od kojih šest tokom procesa proizvodnje i dva tokom procesa skladištenja. Rezultati mikrobiološkog ispitivanja nisu pokazali značajne ( $P < 0,01$ ) razlike između broja ukupnih bakterija i broja BMK sa izuzetkom na 100. dan skladištenja kada su primećeni značajno niži brojevi BMK za kobasicice proizvedene bez dodatka nitrita (NF) u poređenju sa kobasicama u koje su nitriti dodati (N110 i N55) (Grafik 5 i 6).



**Grafik 5.** Promena u ukupnom broju (log cfu/g) bakterija u uzorcima kulena sa različitim sadržajem nitrita.



**Grafik 6.** Promena u broju bakterija mlečne kiseline (BMK) u uzorcima kulena sa različitim sadržajem nitrita.

U isto vreme, ukupan broj bakterija bio je identičan među kobasicama iz različitih serija. Imajući u vidu da su BMK dominantna flora u ukupnom broju bakterija, možemo zaključiti da je broj bakterija koje nisu BMK u kobasicama proizvedenim bez upotrebe nitrita bio najviši. Ipak, ova razlika uočena je samo na kraju skladištenja kulena i ne daje objašnjenje za povišen sadržaj biogenih amina tokom zrenja. Rezultati ove disertacije u skladu su sa rezultatima Christieans i sar. (2018) koji nisu pronašli značajne razlike u broju BMK između kobasica proizvedenih sa različitim sadržajem nitrita.

Na kraju sušenja, ukupan broj bakterija i broj BMK bili su relativno slični rezultatima drugih autora za druge tipove fermentisanih suvih kobasica (Christieans i sar., 2018; X. Hospital i sar., 2016; Lorenzo i Franco, 2012; Lorenzo i sar., 2012). Poređenjem ukupnog broja bakterija i broja BMK kulena sa brojem ovih bakterija u čajnoj kobasici, primećujemo da su ovi brojevi relativno slični. Razlog za to mogu biti slični temperaturni uslovi fermentacije, kao i upotreba istog tipa starter kultura.

### 5.1.6. Boja

Sadržaj nitrita nije imao značajan ( $P < 0.01$ ) uticaj na parametre boje mesa na preseku, masnog tkiva i površine kulena (Tabela 4 i 5). Ovaj podatak je od velike važnosti zbog toga što je jedan od razloga dodavanja nitrita u proizvode od mesa formiranje karakteristične svetloružičaste boje mesa. To potvrđuju rezultati Szymański i sar. (2020) koji su primetili da smanjenje sadržaja nitrita ima negativan uticaj na boju salamurene svinjetine. Međutim, crvena začinska paprika koja se dodaje u kulen veoma je bogata crvenim pigmentima (Schieber i Weber, 2016). Rezultati ove disertacije ukazuju da je količina crvene začinske paprike korišćena u ovoj studiji bila dovoljna da preovlada efekat nitrita na boju kulena. Iz toga proizilazi zaključak da uticaj nitrita na boju kulena nije presudan. Bitno je napomenuti da je ovakav zaključak izведен u uslovima eksperimenta prikazanim u ovoj doktorskoj disertaciji.

### 5.1.7. Analiza teksture

Vrednosti tvrdoće, gumoznosti i žvakljivosti značajno su se povećale tokom sušenja u kobasicama iz sve tri ispitivane serije (Tabela 6). Bez obzira na koncentraciju, dodatak nitrita je uticao na značajno ( $P < 0,01$ ) više vrednosti tvrdoće i žvakljivosti. Rezultati ove disertacije su u skladu sa rezultatima Tang i sar. (2021) prema kojima su vrednosti tvrdoće i žvakavosti kobasica napravljenih sa 150 mg/kg NaNO<sub>2</sub> značajno veće u poređenju sa vrednostima izmerenim u kobasicama bez nitrita. Tang i sar. (2021) kao moguć razlog za ovakve rezultate navode oksidaciju lipida i proteina peroksinitritom i njen uticaj na međusobno umrežavanje i promenu neto nanelektrisanja proteina. Zahvaljujući rezultatima ispitivanja teksture, utvrđeno je da su vrednosti gumoznosti u kulenu bez nitrita (NF) znatno niže od vrednosti serije N110, ali približne vrednostima gumoznosti u kobasicama proizvedenim sa 55 mg/kg NaNO<sub>2</sub> (N55). Sa druge strane, redukcija nitrita nije pokazala značajne razlike u kohezivnosti i elastičnosti između ispitivanja. Uticaj nitrita na parametre teksture mogao bi se objasniti formiranjem karbonila, koji mogu dovesti do unakrsnog povezivanja mišićnih proteina i uticati na njihov neto naboj, što posledično dovodi do njihovog izmenjenog prostornog rasporeda (Sebranek i Bacus, 2007).

**Tabela 4.** Promena vrednosti parametara boje kulena proizvedenog sa različitim sadržajem nitrita tokom prvih 16 dana sušenja (srednja vrednost ± standardna devijacija).

		Vreme sušenja (dani)								
		0			8			16		
		N110	N55	NF	N110	N55	NF	N110	N55	NF
Meso	L*	54,43±2,64 <sup>1a</sup>	53,86±3,02 <sup>1a</sup>	54,28±3,73 <sup>1a</sup>	47,57±2,57 <sup>1b</sup>	48,29±3,73 <sup>1ab</sup>	48,43±4,03 <sup>1ab</sup>	45,14±2,34 <sup>1bc</sup>	46,28±5,56 <sup>1bc</sup>	46,86±1,57 <sup>1bc</sup>
	a*	54,71±2,75 <sup>1a</sup>	54,86±2,27 <sup>1a</sup>	52,86±3,09 <sup>1a</sup>	55,14±2,61 <sup>1a</sup>	54,71±2,06 <sup>1a</sup>	54,86±3,80 <sup>1a</sup>	51,86±3,62 <sup>1a</sup>	51,57±4,16 <sup>1a</sup>	50,57±2,30 <sup>1a</sup>
	b*	50,86±6,20 <sup>1a</sup>	49,71±7,20 <sup>1a</sup>	48,86±2,97 <sup>1a</sup>	50,29±4,50 <sup>1a</sup>	49,14±5,11 <sup>1a</sup>	49,57±2,07 <sup>1a</sup>	49,57±3,36 <sup>1a</sup>	49,43±5,80 <sup>1a</sup>	50,86±4,22 <sup>1a</sup>
Masno tkivo	L*	74,14±2,08 <sup>1a</sup>	75,86±3,62 <sup>1a</sup>	74,29±2,16 <sup>1a</sup>	77,15±1,68 <sup>1a</sup>	80,14±2,27 <sup>1a</sup>	79,28±2,36 <sup>1bc</sup>	75,14±2,91 <sup>1a</sup>	78,57±1,13 <sup>2a</sup>	77,14±1,06 <sup>12ab</sup>
	a*	20,57±2,22 <sup>12a</sup>	18,43±3,02 <sup>1a</sup>	19,14±3,08 <sup>2a</sup>	18,86±3,53 <sup>1a</sup>	16,14±3,07 <sup>1a</sup>	14,86±2,85 <sup>1b</sup>	18,86±1,57 <sup>1a</sup>	17,14±1,86 <sup>1a</sup>	16,86±1,57 <sup>1b</sup>
	b*	18,86±3,41 <sup>12a</sup>	19,71±3,88 <sup>1a</sup>	18,29±2,13 <sup>2a</sup>	20,86±5,95 <sup>1a</sup>	19,71±3,34 <sup>1a</sup>	17,43±2,46 <sup>1b</sup>	20,29±3,81 <sup>1a</sup>	18,14±2,85 <sup>1a</sup>	21,71±4,35 <sup>1b</sup>
Površina	L*	36,00±3,32 <sup>1a</sup>	37,29±2,21 <sup>1a</sup>	36,29±2,36 <sup>1a</sup>	19,86±2,03 <sup>1b</sup>	20,00±2,77 <sup>1b</sup>	19,86±2,11 <sup>1b</sup>	16,14±3,02 <sup>1b</sup>	16,57±2,37 <sup>1b</sup>	17,71±2,43 <sup>1b</sup>
	a*	46,57±3,73 <sup>1a</sup>	48,29±2,43 <sup>1a</sup>	43,86±2,54 <sup>1a</sup>	36,86±1,57 <sup>1b</sup>	34,57±3,60 <sup>1ab</sup>	35,57±2,30 <sup>1b</sup>	29,14±2,91 <sup>1b</sup>	29,86±3,44 <sup>1bc</sup>	30,57±3,55 <sup>1bc</sup>
	b*	45,43±5,25 <sup>1a</sup>	43,00±3,32 <sup>1a</sup>	42,57±5,56 <sup>1a</sup>	30,57±3,21 <sup>1bc</sup>	27,29±4,39 <sup>1b</sup>	28,43±3,50 <sup>1b</sup>	24,71±4,68 <sup>2b</sup>	23,14±4,84 <sup>2b</sup>	21,86±6,59 <sup>2b</sup>

N110 – 110 mg/kg NaNO<sub>2</sub>; N55 – 55 mg/kg NaNO<sub>2</sub>; NF – bez nitrita;

<sup>1-3</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istom danu zrenja) koje nisu praćene istim brojevima su statistički značajno različite (P<0,01)

<sup>a-f</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istoj seriji) koje nisu praćene istim slovima su statistički značajno različite (P<0,01)

**Tabela 5.** Promena vrednosti parametara boje kulena proizvedenog sa različitim sadržajem nitrita tokom poslednjih 16 dana sušenja (srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija).

		Vreme sušenja (dani)								
		24			32			40		
		N110	N55	NF	N110	N55	NF	N110	N55	NF
Meso	L*	44.28 $\pm$ 3.59 <sup>1bc</sup>	43.14 $\pm$ 2.97 <sup>1bc</sup>	42.14 $\pm$ 3.32 <sup>1bc</sup>	41.14 $\pm$ 2.61 <sup>1c</sup>	41.43 $\pm$ 4.20 <sup>1bc</sup>	42.29 $\pm$ 4.68 <sup>1bc</sup>	41.29 $\pm$ 2.07 <sup>1c</sup>	39.57 $\pm$ 1.99 <sup>1c</sup>	41.14 $\pm$ 2.85 <sup>1c</sup>
	a*	51.14 $\pm$ 3.39 <sup>1a</sup>	51.71 $\pm$ 2.93 <sup>1a</sup>	50.28 $\pm$ 2.21 <sup>1a</sup>	51.43 $\pm$ 4.68 <sup>1a</sup>	51.57 $\pm$ 2.44 <sup>1a</sup>	53.14 $\pm$ 2.54 <sup>1a</sup>	52.14 $\pm$ 6.49 <sup>1a</sup>	53.57 $\pm$ 1.99 <sup>1a</sup>	51.14 $\pm$ 2.34 <sup>1a</sup>
	b*	50.14 $\pm$ 5.34 <sup>1a</sup>	51.14 $\pm$ 2.19 <sup>1a</sup>	49.57 $\pm$ 5.25 <sup>1a</sup>	52.71 $\pm$ 2.87 <sup>1a</sup>	53.43 $\pm$ 3.21 <sup>1a</sup>	51.86 $\pm$ 3.62 <sup>1a</sup>	53.28 $\pm$ 3.73 <sup>1a</sup>	51.57 $\pm$ 7.57 <sup>1a</sup>	52.86 $\pm$ 3.29 <sup>1a</sup>
Masno tkivo	L*	74.57 $\pm$ 1.99 <sup>1a</sup>	77.29 $\pm$ 1.38 <sup>1a</sup>	76.71 $\pm$ 2.21 <sup>1ab</sup>	77.29 $\pm$ 3.09 <sup>1a</sup>	76.43 $\pm$ 0.97 <sup>1a</sup>	77.86 $\pm$ 1.57 <sup>1ab</sup>	74.14 $\pm$ 3.44 <sup>1a</sup>	75.86 $\pm$ 3.39 <sup>1a</sup>	74.28 $\pm$ 2.98 <sup>1ac</sup>
	a*	18.29 $\pm$ 2.14 <sup>1a</sup>	18.86 $\pm$ 3.48 <sup>1a</sup>	17.14 $\pm$ 2.48 <sup>1b</sup>	18.71 $\pm$ 4.07 <sup>1a</sup>	20.86 $\pm$ 4.84 <sup>1a</sup>	18.71 $\pm$ 3.12 <sup>1ab</sup>	20.57 $\pm$ 3.31 <sup>1a</sup>	18.43 $\pm$ 2.99 <sup>1a</sup>	19.14 $\pm$ 1.77 <sup>1ab</sup>
	b*	17.71 $\pm$ 3.68 <sup>1a</sup>	20.57 $\pm$ 3.27 <sup>1a</sup>	18.57 $\pm$ 3.41 <sup>1b</sup>	19.14 $\pm$ 4.10 <sup>1a</sup>	22.86 $\pm$ 3.38 <sup>1a</sup>	23.43 $\pm$ 5.68 <sup>1b</sup>	18.86 $\pm$ 1.86 <sup>1a</sup>	19.71 $\pm$ 4.92 <sup>1a</sup>	18.29 $\pm$ 4.68 <sup>1b</sup>
Površina	L*	16.43 $\pm$ 4.18 <sup>1b</sup>	17.43 $\pm$ 3.70 <sup>1b</sup>	18.00 $\pm$ 4.51 <sup>1b</sup>	16.57 $\pm$ 3.55 <sup>1b</sup>	18.56 $\pm$ 4.22 <sup>1b</sup>	16.14 $\pm$ 4.48 <sup>1b</sup>	15.86 $\pm$ 3.14 <sup>1b</sup>	16.43 $\pm$ 2.16 <sup>1b</sup>	15.71 $\pm$ 3.94 <sup>1b</sup>
	a*	31.00 $\pm$ 5.96 <sup>1b</sup>	29.14 $\pm$ 5.24 <sup>1bc</sup>	26.86 $\pm$ 4.06 <sup>1cd</sup>	30.43 $\pm$ 3.60 <sup>1b</sup>	30.29 $\pm$ 5.59 <sup>1bc</sup>	30.00 $\pm$ 4.04 <sup>1bc</sup>	25.86 $\pm$ 1.86 <sup>1b</sup>	25.00 $\pm$ 3.05 <sup>1c</sup>	24.14 $\pm$ 2.73 <sup>1ad</sup>
	b*	21.86 $\pm$ 4.41 <sup>1b</sup>	20.57 $\pm$ 3.59 <sup>1b</sup>	19.43 $\pm$ 4.79 <sup>1b</sup>	20.29 $\pm$ 3.95 <sup>1bd</sup>	22.43 $\pm$ 3.37 <sup>1b</sup>	21.57 $\pm$ 4.25 <sup>1b</sup>	18.71 $\pm$ 3.40 <sup>1bd</sup>	19.14 $\pm$ 3.72 <sup>1b</sup>	19.29 $\pm$ 4.47 <sup>1b</sup>

N110 – 110 mg/kg NaNO<sub>2</sub>; N55 – 55 mg/kg NaNO<sub>2</sub>; NF – bez nitrita;<sup>1-3</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istom danu zrenja) koje nisu praćene istim brojevima su statistički značajno različite ( $P<0.01$ )<sup>a-f</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istoj seriji) koje nisu praćene istim slovima su statistički značajno različite ( $P<0.01$ )

**Tabela 6.** Promena parametara teksture uzoraka kulena proizvedenim sa različitim sadržajem nitrita tokom sušenja.

Vreme sušenja (dani)																		
	0			SEM			8			SEM			16			SEM		
	N110	N55	NF	N110	N55	NF	N110	N55	NF	N110	N55	NF	N110	N55	NF	N110	N55	NF
Tvrdoća (N)	7.13 <sup>1a</sup>	7.35 <sup>1a</sup>	6.66 <sup>1a</sup>	0.21	20.64 <sup>1b</sup>	20.12 <sup>12b</sup>	17.14 <sup>2b</sup>	0.51	37.29 <sup>1c</sup>	36.54 <sup>1c</sup>	31.32 <sup>2c</sup>	0.72						
Elastičnost	0.77 <sup>1a</sup>	0.69 <sup>2a</sup>	0.72 <sup>12a</sup>	0.01	0.90 <sup>1b</sup>	0.84 <sup>12b</sup>	0.79 <sup>2ab</sup>	0.01	0.91 <sup>1b</sup>	0.86 <sup>1b</sup>	0.83 <sup>1b</sup>	0.02						
Kohezivnost	0.53 <sup>12a</sup>	0.52 <sup>1ac</sup>	0.56 <sup>2a</sup>	0.00	0.47 <sup>1b</sup>	0.48 <sup>1b</sup>	0.45 <sup>1b</sup>	0.01	0.50 <sup>1abc</sup>	0.50 <sup>1ab</sup>	0.47 <sup>1b</sup>	0.01						
Gumoznost (N)	4.44 <sup>1a</sup>	3.36 <sup>2a</sup>	3.61 <sup>1a</sup>	0.13	9.41 <sup>1b</sup>	11.43 <sup>1b</sup>	9.33 <sup>1b</sup>	0.33	16.53 <sup>1b</sup>	18.49 <sup>2c</sup>	15.42 <sup>1c</sup>	0.34						
Žvakljivost (N)	3.35 <sup>1a</sup>	2.42 <sup>2a</sup>	2.43 <sup>2a</sup>	0.13	8.86 <sup>12b</sup>	10.20 <sup>1b</sup>	7.64 <sup>2b</sup>	0.29	16.74 <sup>1c</sup>	15.54 <sup>1c</sup>	11.52 <sup>2b</sup> <sub>c</sub>	0.49						
Vreme sušenja (dani)																		
	24			SEM			32			SEM			40			SEM		
	N110	N55	NF	N110	N55	NF	N110	N55	NF	N110	N55	NF	N110	N55	NF	N110	N55	NF
Tvrdoća (N)	41.66 <sup>1c</sup>	41.85 <sup>1d</sup>	39.15 <sup>1d</sup>	0.67	48.06 <sup>1d</sup>	47.71 <sup>1e</sup>	43.70 <sup>2e</sup>	0.61	53.57 <sup>1d</sup>	52.71 <sup>1e</sup>	49.09 <sup>2f</sup>	0.42						
Elastičnost	0.79 <sup>1a</sup>	0.83 <sup>1b</sup>	0.74 <sup>1ab</sup>	0.02	0.71 <sup>1a</sup>	0.70 <sup>1a</sup>	0.69 <sup>1a</sup>	0.01	0.73 <sup>1a</sup>	0.78 <sup>1ab</sup>	0.70 <sup>1a</sup>	0.01						
Kohezivnost	0.52 <sup>1abc</sup>	0.48 <sup>2b</sup>	0.48 <sup>2b</sup>	0.01	0.59 <sup>1ad</sup>	0.56 <sup>1acd</sup>	0.54 <sup>1a</sup>	0.01	0.61 <sup>1d</sup>	0.60 <sup>1d</sup>	0.56 <sup>1a</sup>	0.01						
Gumoznost (N)	18.18 <sup>1c</sup>	21.01 <sup>2c</sup>	17.85 <sup>1c</sup>	0.60	26.43 <sup>1d</sup>	26.96 <sup>1d</sup>	23.22 <sup>2d</sup>	0.50	28.94 <sup>1d</sup>	27.36 <sup>12d</sup>	24.15 <sup>2d</sup>	0.59						
Žvakljivost (N)	16.79 <sup>1c</sup>	16.87 <sup>1c</sup>	14.50 <sup>1cd</sup>	0.47	17.73 <sup>1c</sup>	17.30 <sup>1c</sup>	15.98 <sup>1d</sup>	0.43	19.22 <sup>1c</sup>	19.40 <sup>1c</sup>	16.49 <sup>2d</sup>	0.52						

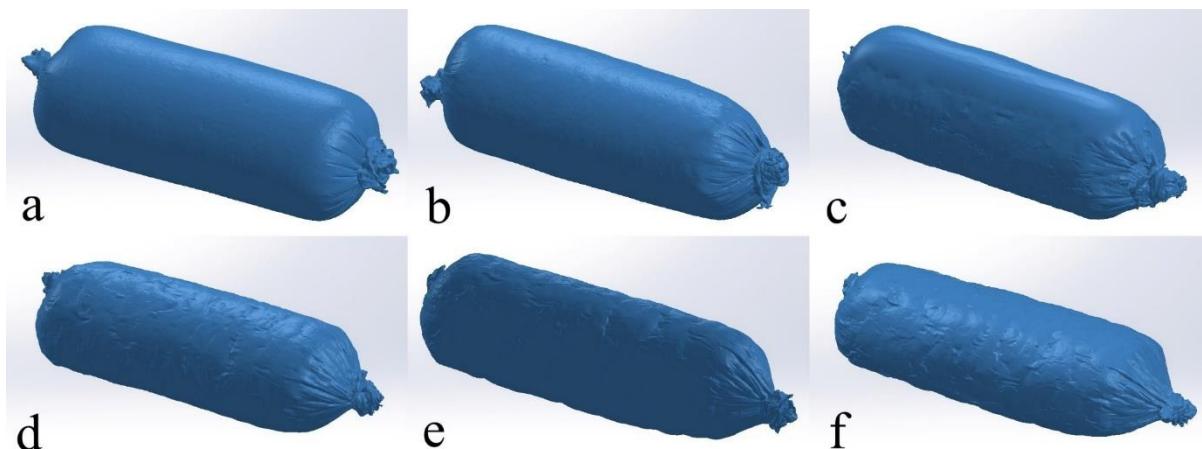
N110 – 110 mg/kg NaNO<sub>2</sub>; N55 – 55 mg/kg NaNO<sub>2</sub>; NF – bez nitrita; SEM – standardna greška

<sup>1-3</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istom danu sušenja) praćene različitim brojem značajno se razlikuju (P<0,01)

<sup>a-f</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istoj seriji) praćene različitim slovom značajno se razlikuju (P<0,01)

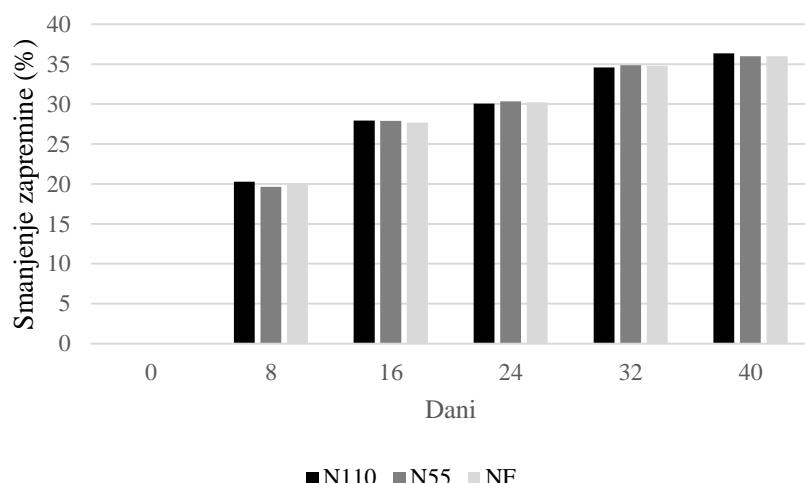
### 5.1.8. 3D skeniranje

Eksperimentalno utvrđena relativna greška procene zapremine pomoću 3D skeniranja merena je volumetrijskom metodom i iznosila je od 2.1% do 4.8% u zavisnosti od faze sušenja. Ove vrednosti relativno su slične vrednostima prijavljenim od strane R. Zhang i sar. (2020) koji je pomoću 3D skenera ispitivao zapreminu hrane nepravilnog oblika kao što su krompir, šargarepa i koren đumbira. Sa druge strane, dobijene vrednosti bile su više od onih prijavljenih u istraživanju Goñi i sar. (2007) koji su ispitivali mogućnost procene zapremine dve sorte jabuka i svežeg mesa pomoću 3D skenera. Relativna greška procene zapremine bila je viša na kraju procesa sušenja nego na početku. Razlog za to može biti u naboranoj površini kobasice na kraju sušenja usled čega je kobasica poprimila nepravilan oblik (Slika 16). Redukcija sadržaja nitrita nije imala značajan ( $P < 0.01$ ) uticaj na smanjenje zapremine među ispitivanim serijama kobasica (Grafik 7).



**Slika 16.** Trodimenzionalni (3D) modeli kulena tokom procesa proizvodnje. (a) Dan proizvodnje. (b) 8. dan (c) 16. dan (d) 24. dan (e) 32. dan (f) 40. dan

Smanjenje zapremine kobasica bilo je u jakoj korelaciji ( $P < 0,01$ ) sa kalom sušenja ( $r=0,99$ ). Sa druge strane, smanjenje zapremine pokazalo je negativnu korelaciju sa sadržajem vlage ( $r=-0,98$ ) i  $a_w$  vrednošću ( $r=-0,93$ ) što ukazuje da je isparavanje vode koje se odvija tokom sušenja jeste glavni razlog za smanjenje zapremine kobasica.



**Grafik 7.** Smanjenje zapremine (%) uzorka kulena proizvedenih sa različitim sadržajem nitrita tokom sušenja.

Visoke vrednosti koeficijenata korelacije kala sušenja i sadržaja vlage sa zapreminom, ukazuju na mogućnost procene sadržaja vlage i kala sušenja merenjem zapremine koristeći 3D lasersko skeniranje. Ovakav način određivanja sadržaja vlage ima prednost u odnosu na tradicionalno određivanje sadržaja vlage, koje podrazumeva homogenizaciju uzorka pomoću blendera, odmeravanje određene mase uzorka i sušenje na 105°C, gde se uzorak suši nekoliko sati a zatim hlađe u eksikatoru do postizanja konstantne mase.

Ukoliko konstantna masa nije postignuta, uzorak se mora ponovo vratiti u sušnicu što može biti veoma zahtevno u pogledu vremena. Dakle, može se zaključiti da primena 3D skeniranja u proceni sadržaja vlage deluje kao obećavajuća alternativa tradicionalnoj analizi jer je brza i nije destruktivna. Ovo znači da bi uzorak nakon 3D analize mogao da se koristi za analizu fizičko-hemijskih parametara ukoliko tokom skeniranja ne dolazi do njihove promene. Takođe, primena 3D skeniranja može biti zanimljiva za industriju mesa gde se ono može koristiti tokom različitih faza sušenja kao alat za određivanje kraja procesa sušenja. Međutim, da bi industrija bila u mogućnosti da koristi ovu vrstu merenja u svakodnevnom radu, neophodno je razviti odgovarajuće matematičke modele za svaki tip fermentisane kobasice.

### 5.1.9. Oralno procesiranje

Rezultati analize oralnog procesiranja za tri serije kulena proizvedene sa različitim sadržajem nitrita prikazane su u tabeli 7. Uklanjanje nitrita iz recepture kulena uticalo je značajno ( $P < 0,01$ ) na smanjenje broja zagrižaja i smanjenje vremena konzumacije jednog zalogaja. Prema Peyron i sar. (2002), broj zagrižaja i vreme konzumacije konditorskih proizvoda povećava se sa povećanjem tvrdoće uzorka što je u skladu sa prethodno prikazanim rezultatima dobijenim za čajnu kobasicu. Preciznije, analizom teksture čajne kobasice utvrđeno je da što je sadržaj masti viši, manja je tvrdoća uzorka i obratno. Vrednosti broja zagrižaja i vremena konzumacije kobasica proizvedenih bez upotrebe nitrita (NF) manje su od onih izmerenih za kobasice sa dodatim nitritima (N110 i N55) što je u skladu sa rezultatima analize teksture koja je pokazala značajno ( $P < 0,01$ ) niže vrednosti tvrdoće NF kobasica.

**Tabela 7.** Parametri oralnog procesiranja za tri serije kulena proizvedenih sa različitim sadržajem masnog tkiva (srednja vrednost ± standardna devijacija).

	N110	N55	NF
Broj zagrižaja po zalogaju	22,79±2,23 <sup>1</sup>	22,37±2,45 <sup>1</sup>	20,62±0,77 <sup>2</sup>
Vreme konzumacije jednog zalogaja (s)	17,04±2,03 <sup>1</sup>	16,83±2,58 <sup>1</sup>	14,83±1,05 <sup>2</sup>
Brzina žvakanja (broj zagrižaja/s)	1,34±0,08 <sup>1</sup>	1,34±0,11 <sup>1</sup>	1,39±0,07 <sup>1</sup>
Brzina konzumacije (g/s)	0,45±0,05 <sup>1</sup>	0,43±0,04 <sup>1</sup>	0,48±0,08 <sup>1</sup>
Prosečna masa zalogaja (g)	7,62±0,51 <sup>1</sup>	7,26±0,96 <sup>1</sup>	7,02±1,10 <sup>1</sup>

N110 – 110 mg/kg NaNO<sub>2</sub>; N55 – 55 mg/kg NaNO<sub>2</sub>; NF – bez nitrita

<sup>1-3</sup> Vrednosti u isto redu koje nisu praćene istim brojevima se statistički značajno razlikuju ( $P < 0,01$ )

Vreme konzumacije jednog zalogaja pokazalo je jaku zavisnost ( $P < 0,01$ ) sa brojem zagrižaja ( $r=0,88$ ) i srednjim sa brzinom žvakanja ( $r=0,72$ ) i brzinom konzumacije ( $r=0,51$ ). U studiji Aguayo-Mendoza i sar. (2019), prosečna masa zalogaja razlikovala se u zavisnosti od vrste proizvoda. U našem eksperimentu nismo našli na statistički značajne razlike ( $P < 0,01$ ) između srednjih vrednosti mase zalogaja kulena iz tri ispitivane serije.

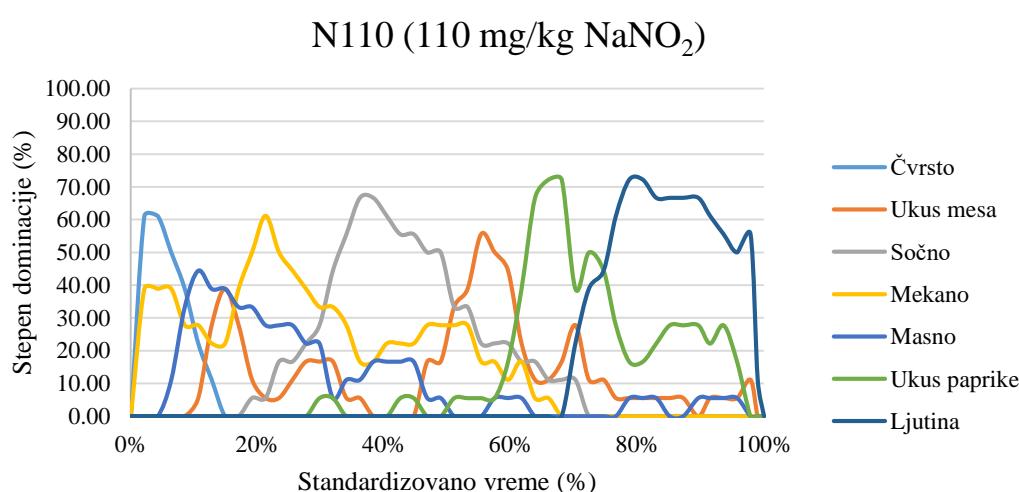
Smanjenje sadržaja nitrita nije imalo značajan uticaj na brzinu žvakanja i brzinu konzumacije. Brzina žvakanja bila je u skladu sa rezultatima Aguayo-Mendoza i sar. (2019) koji su prijavili brzinu žvakanja od 1,4 zagrižaja/s u slučaju junetine. Sa druge strane, rezultati ove disertacije koji se odnose na brzinu konzumacije razlikuju se od onih prijavljenih od strane Aguayo-Mendoza i sar. (2019) koji

su prijavili vrednosti od oko 0,2 g/s. Razlog za neslaganje rezultata može biti u različitoj teksturi kobasice i krtog junećeg mesa koje je ispitivano u studiji Aguayo-Mendoza i sar. (2019). Međutim, usled nedostatka literature koja se odnosi na parametre oralnog procesiranja fermentisanih kobasica, poređenje sa drugim rezultatima nije bilo moguće.

### 5.1.10. Privremena dominacija senzacija

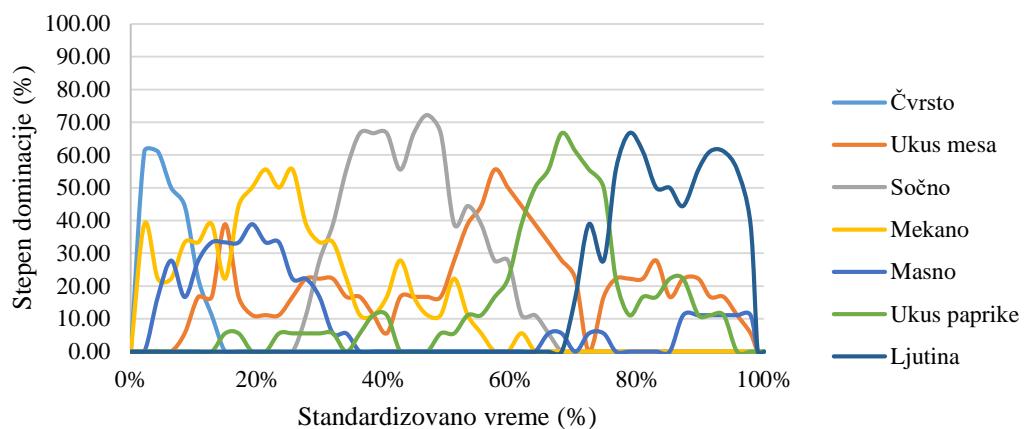
Obradom rezultata analize privremene dominacije senzacija konstruisana su tri grafikona (Grafik 8, 9 i 10). Razlike u ispitivanim parametrima između kobasica iz tri serije nisu bile statistički značajne ( $P < 0.01$ ). Najdominantnija senzacija u prvih 15% vremena konzumacije bila je tvrdoća, praćena senzacijom mekoće i masnoće. Tvrdoća je opisana kao osećaj kada je potrebna velika sila za kompresiju hrane između kutnjaka, dok se mekana senzacija odnosi na malu silu potrebnu za kompresiju (Novaković i Tomašević, 2017). Senzacija masnoće je panelistima objašnjena kao svojstvo koje se odnosi na percepciju količine masnog tkiva u proizvodu u skladu sa ISO 5492:2008 standardom. Rezultati ove disertacije u skladu su sa rezultatima Lorido i sar. (2016) koji su prijavili da je tvrdoća bila dominantan osećaj tokom prvih 15% vremena konzumacije suve šunke, odnosno pršute. U našem eksperimentu, sočnost je bila dominantnija (60–70%) i percipirana ranije (na oko 40% vremena konzumacije) u poređenju sa rezultatima Lorido i sar. (2016). Sočnost je opisana kao količina tečnosti koju uzorak otpusti tokom konzumacije i kao količina vode poreklom iz pljuvačke (Sañudo-Barajas i sar., 2019).

Ove razlike mogu se objasniti različitom teksturom kobasice i suve šunke koja je mogla uticati na ranije i povećano lučenje pljuvačke tokom konzumacije. Osećaj sočnosti praćen je ukusom mesa koji je dominirao na oko 60% vremena konzumacije, dok je ukus paprike bio dominantan između 60% i 75% vremena konzumacije. Kao rezultat dodatka crvene ljute začinske paprike, ljutina je zapažena kao naknadni ukus (engl. after taste), tj. u poslednjih 25% vremena konzumacije za 50–70% ocenjivača. Ljutina je objašnjena kao osećaj povećane temperature koji nastaje zbog kontakta sluzokože sa jedinjenjima kao što je kapsaicin iz ljute parpine u skladu sa ISO 5492:2008 standardom.



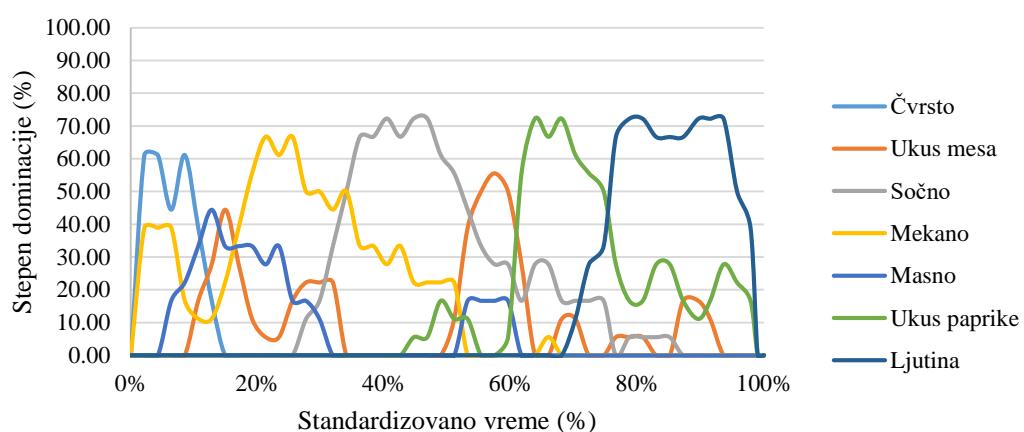
**Grafik 8.** Rezultati analize privremene dominacije senzacija za kulen proizveden sa 110 mg/kg NaNO<sub>2</sub>.

### N55 (55 mg/kg NaNO<sub>2</sub>)



**Grafik 9.** Rezultati analize privremene dominacije senzacija za kulen proizveden sa 55 mg/kg NaNO<sub>2</sub>.

### NF (bez nitrita)



**Grafik 10.** Rezultati analize privremene dominacije senzacija za kulen proizveden bez dodatka NaNO<sub>2</sub>.

## 5.2. Rezultati ispitivanja Njeguške kobasice

### 5.2.1. Fizičko-hemijske analize

Na osnovu rezultata ispitivanja vlage primećeno je da se sadržaj vlage značajno ( $P < 0,05$ ) smanjio tokom procesa zrenja Njeguške kobasice (Tabela 8). U gotovom proizvodu sadržaj vlage pao je ispod 35% što predstavlja zahtev Pravilnika o kvalitetu usitnjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019). Sadržaj vlage u kobasicama pao je ispod 35% nakon 12 dana zrenja što ukazuje da se u pogledu ovog zahteva Pravilnika vreme sušenja Njeguške kobasice može skratiti za četiri dana u slučaju primene identičnih uslova sušenja i zrenja. Konačne vrednosti sadržaja vlage približne su vrednostima prijavljenim za Harbin suvu kobasicu (Jiaxin Chen i sar., 2019), niže od vrednosti prijavljenih za fuet (Héctor Mora-Gallego i sar., 2016), ali više od onih nađenih za chorizo (Pateiro i sar., 2015). Nizak početni sadržaj vlage u Njeguškoj kobasici (51,58%) verovatno je posledica visokog početnog sadržaja masnog tkiva što je prijavljeno i za druge fermentisane kobasice sa visokim sadržajem masti (Leite i sar., 2015). Posledično, smanjenje sadržaja vlage dovelo je i do značajnog smanjenja ( $P < 0,05$ ) a<sub>w</sub> vrednosti koja se tokom procesa sušenja snizila sa vrednosti od oko 0,93 do 0,80.

Krajnje a<sub>w</sub> vrednosti slične su sa onima nađenim za Harbin suvu kobasicu (Jiaxin Chen i sar., 2019), ali niže od onih prijavljenih za druge fermentisane kobasice (Iacumin i sar., 2020; Tremonte i sar., 2017). Niska kranja a<sub>w</sub> vrednost u Njeguškoj kobasici mogu biti posledica omotača malog dijametra i niskog početnog sadržaja vlage. Smanjenje a<sub>w</sub> vrednosti pokazalo je veoma jaku pozitivnu korelaciju ( $P < 0,01$ ) sa sadržajem vlage ( $r=0,99$ ), a negativnu sa kalom sušenja ( $r=-0,99$ ). Vreme sušenja je statistički značajno uticalo na razlike u srednjim vrednostima kala sušenja koje je bilo najizraženije u prva četiri dana zrenja. Ukupan kalo sušenja (36,34%) je niži od vrednosti prijavljenih od strane drugih autora za druge fermentisane kobasice u kojima je kalo sušenja iznosio preko 44% (Gómez i sar., 2017; Héctor Mora-Gallego i sar., 2016). Razlog za to može se naći u kraćem periodu sušenja i niskom početnom sadržaju vlage u Njeguškoj kobasici. Naime, sadržaj vlage u mesu viši je od sadržaja vlage u masnom tkivu svinja, pa zbog toga kobasice proizvedene sa višim sadržajem masnog tkiva imaju niži početni sadržaj vlage.

**Tabela 8.** Promena u hemijskom sastavu Njeguške kobasice tokom sušenja (srednja vrednost ± standardna devijacija).

	Vreme sušenja (dani)				
	0	4	8	12	16
pH	5,98±0,01 <sup>a</sup>	5,82±0,01 <sup>b</sup>	5,52±0,02 <sup>c</sup>	5,52±0,02 <sup>c</sup>	5,54±0,04 <sup>c</sup>
a <sub>w</sub>	0,938±0,00 <sup>a</sup>	0,913±0,00 <sup>b</sup>	0,873±0,01 <sup>c</sup>	0,833±0,00 <sup>d</sup>	0,797±0,01 <sup>e</sup>
Sadržaj vlage (%)	51,58±0,28 <sup>a</sup>	45,65±0,14 <sup>b</sup>	36,65±0,44 <sup>c</sup>	30,05±0,47 <sup>d</sup>	24,44±0,41 <sup>e</sup>
Sadržaj proteina (%)	29,03±0,26 <sup>a</sup>	29,69±0,90 <sup>ab</sup>	27,93±0,25 <sup>c</sup>	30,43±0,39 <sup>d</sup>	30,21±0,53 <sup>abd</sup>
SM)					
Masti (% SM)	62,5±0,51 <sup>a</sup>	64,55±0,90 <sup>b</sup>	60,47±2,30 <sup>c</sup>	60,81±1,14 <sup>ac</sup>	58,14±0,69 <sup>d</sup>
Sadržaj malonaldehida (mg MDA/kg)	0,04±0,01 <sup>a</sup>	0,25±0,01 <sup>b</sup>	0,30±0,01 <sup>c</sup>	0,25±0,01 <sup>b</sup>	0,27±0,01 <sup>d</sup>
Kalo sušenja (%)	12,77±0,24 <sup>a</sup>	20,81±0,40 <sup>b</sup>	28,27±0,34 <sup>c</sup>	36,34±0,34 <sup>d</sup>	

<sup>a-e</sup> Vrednosti u istom redu praćeni različitim slovima značajno se razlikuju ( $P < 0,05$ ).

Kalo sušenja pokazaspotio je negativnu korelaciju ( $P < 0,01$ ) sa sadržajem vlage ( $r=-0,99$ ). U prvih osam dana sušenja, vrednost pH pala je sa 5,98 na 5,52 nakon čega se nije značajnije menjala do kraja procesa zrenja. Kao razlog za smanjenje pH vrednosti u literaturi se najčešće navodi formiranje i akumulacija mlečne i drugih kiselina kao posledica fermentacije (Demirok Soncu i sar., 2018).

Krajnja vrednost pH (5,54) slična je onima prijavljenim za italijanske kobasice proizvedene na nižim temperaturama i bez dodatka starter kultura (Tremonte i sar., 2017). Niža temperatura u kombinaciji sa spontanom fermentacijom mogla je usloviti smanjen obim fermentacije. Rezultati ovog doktorata ukazuju na činjenicu da mikrobiološka bezbednost Njeguške kobasice zavisi pre svega od niske  $a_w$  vrednosti (0,80). Pad vrednosti pH do 5,52 ukazuje na ograničenu fermentaciju koja je generalno karakteristična za fermentisane kobasice proizvedene u tradicionalnim uslovima. Njihova proizvodnja odvija se tokom zimskih meseci kada su spoljašnje temperature niske. Pored toga, proizvodnja suvih kobasic u tradicionalnim uslovima ne podrazumeva upotrebu starter kultura ili sredstava za regulaciju kiselosti. Kako tokom zrenja dolazi do proteolize i oslobađanja peptida, aminokiselina i amonijaka iz proteina, pH vrednost kobasica raste (Gómez i sar., 2017; Iacumin i sar., 2020). Međutim, vrednost pH Njeguške kobasice nije značajno ( $p<0,05$ ) porasla u poslednjim danima zrenja. U pogledu rezultata merenja pH vrednosti, ona može biti svrstana u grupu slabo kiselih kobasic slično mađarskim i italijanskim u kojima pH vrednost retko pada ispod 5,3 (Lucke, 2000).

Vreme sušenja imalo je značajan efekat ( $P<0,05$ ) na sadržaj proteina i masti. Uprkos tome što je sadržaj masti izražen kao procenat masti na 100 g suve materije, može se uočiti se da se sadržaj u manjoj meri menjao tokom zrenja. Ovo može biti objašnjeno otpuštanjem masti izvan kobasice tokom procesa sušenja, i kasnije vakumiranja, a takođe i visokim sadržajem masnih kiselina sa nižom tačkom topljenja usled čega masti mogu lakše biti otpuštene iz kobasice (Gómez i sar., 2017; Wood i sar., 2008).

Masnickiselinski sastav (%) Njeguške kobasice bio je sledeći: C14:0 (1,08), C15:0 (0,07), C16:0 (25,13), C16:1 (1,79), C17:0 (0,35), C18:0, (13,22), C18:1n-9 (45,39), C18:2n-6 (10,97), C20:0 (0,19), C18:3n-6 (0,03), C18:3n-3 (0,41), C20:1 (0,63), C20:2n-6 (0,34), C20:3n-6 (0,06), C20:3n-3 (0,05), C22:1n-9 + C20:4n-6 (0,22), C22:5n-3 (0,05), zasićene masne kiseline (SFA) (40,04), mononezasićene masne kiseline (MUFA) (47,81), polinezasićene masne kiseline (PUFA) (11,93), n-6 (11,34), n-3 (0,51) i n-6/n-3 (22,57). Profil masnih kiselina predstavlja veoma bitan parametar u pogledu procene oksidativne stabilnosti proizvoda tokom skladištenja zbog podložnosti polinezasićenih masnih kiselina oksidaciji (Wood i sar., 2008). Sadržaj polinezasićenih masnih kiselina u Njeguškoj kobasici niži je nego u Galicijskom čorizu (16,1%) proizvedenom od svinja hranjenih komercijalnom smešom (Gómez i sar., 2017). Nasuprot tome, sadržaj zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina, kao i odnos n-6 prema n-3 masnim kiselinama bio je viši u Njeguškoj kobasici. Profil masnih kiselina u Njeguškoj kobasici najsličniji je masnickiselinskom profilu kulena prikazanom u studiji objavljenoj od strane Parunović i sar. (2014). U pogledu oksidativne stabilnosti, statistički značajne ( $P<0,05$ ) razlike utvrđene su između srednjih vrednosti sadržaja malonaldehyda na kraju sušenja i u prvoj polovini zerenja. Studija Y. Zhang i sar. (2019) pokazala je da je sadržaj malonaldehyda ispod 2,5 mg/kg prihvatljiv u pogledu percepcije užeglosti od strane potrošača. Uprkos tome što su Gómez i Lorenzo (2013) prijavili jaku korelaciju ( $r=0,829$ ;  $P<0,01$ ) sadržaja malonaldehyda sa sadržajem masnog tkiva, konačan sadržaj malonaldehyda (0,27 mg MAD/kg) za Njegušku bio je niži od onog prijavljenog za druge vrste suvih kobasic (Pateiro i sar., 2015; Sucu i Turp, 2018; Sun i sar., 2018). Razlog za nizak sadržaj malonaldehyda može biti u relativno kratkom procesu sušenja i zrenja i u niskom početnom sadržaju malonaldehyda (0,04 mg MDA/kg).

### 5.2.2. Biogeni amini

Sadržaj biogenih amina u prehrambenim proizvodima veoma je važan parametar u pogledu bezbednosti hrane kako se njihov povišen sadržaj dovodi u vezu sa negativnim efektima po zdravlje ljudi (EFSA, 2011). Sadržaji tiramina (36,9 mg/kg) i putrescina (16,7 mg/kg) u Njeguškoj kobasici bili su najviši od svih biogenih amina obuhvaćenih ispitivanjem. Slični rezultati prijavljeni su od strane drugih autora sa izuzetkom kadaverina čiji sadržaj je često relativno visok (Alves i sar., 2017; Sun i sar., 2018). Pored toga što se sadržaj biogenih amina povećao tokom poslednja četiri dana zrenja, nivoi kadaverina, spermina, spermidine, histamina i triptamina su ostali na nivou ispod 5 mg/kg (Tabela 9).

**Tabela 9.** Promene u sadržaju biogenih amina (mg/kg) tokom procesa sušenja (srednja vrednost ± standardna devijacija).

	Vreme sušenja (dani)				
	0	4	8	12	16
Kadaverin (mg/kg)	NK	NK	NK	NK	3,70±0,90
Putrescin (mg/kg)	NK	NK	1,00±0,10 <sup>a</sup>	1,08±0,10 <sup>a</sup>	16,66±1,06 <sup>b</sup>
Spermin (mg/kg)	2,29±0,18 <sup>a</sup>	1,86±0,22 <sup>b</sup>	1,07±0,15 <sup>c</sup>	1,55±0,21 <sup>b</sup>	4,93±0,36 <sup>d</sup>
Spermidin (mg/kg)	NK	0,18±0,04 <sup>a</sup>	0,42±0,10 <sup>a</sup>	0,41±0,07 <sup>a</sup>	4,34±0,65 <sup>b</sup>
Histamin (mg/kg)	NK	NK	NK	NK	1,07±0,32
Tiramin (mg/kg)	NK	NK	1,46±0,40 <sup>a</sup>	1,06±0,09 <sup>a</sup>	36,93±1,93 <sup>b</sup>
Triptamin (mg/kg)	NK	0,56±0,10 <sup>a</sup>	3,77±0,36 <sup>b</sup>	3,65±0,66 <sup>b</sup>	4,68±5,72 <sup>c</sup>

NK nije kvanifikovano

<sup>a-d</sup> Vrednosti u istom redu praćeni različitim slovima značajno se razlikuju ( $P < 0,05$ ).

Generalno, sadržaj biogenih amina u Njeguškoj kobasici bio je dosta niži od nivoa prijavljenih za većinu drugih suvih kobasicica (Alves i sar., 2017; Sun i sar., 2019) što može biti posledica dobrih higijenskih uslova tokom proizvodnog procesa. Studija Sun i sar. (2019) pokazala je da tokom skladištenja dolazi do povećanje sadržaja biogenih amina. Zbog toga, podatke o sadržaju biogenih amina prijavljene u studiji Alves i sar. (2017), koji su ispitivanjem obuhvatili 20 fermentisanih kobasicica, potrebno je uzeti sa rezervom usled nedostatka informacija vezanih za datum proizvodnje i period skladištenja proizvoda.

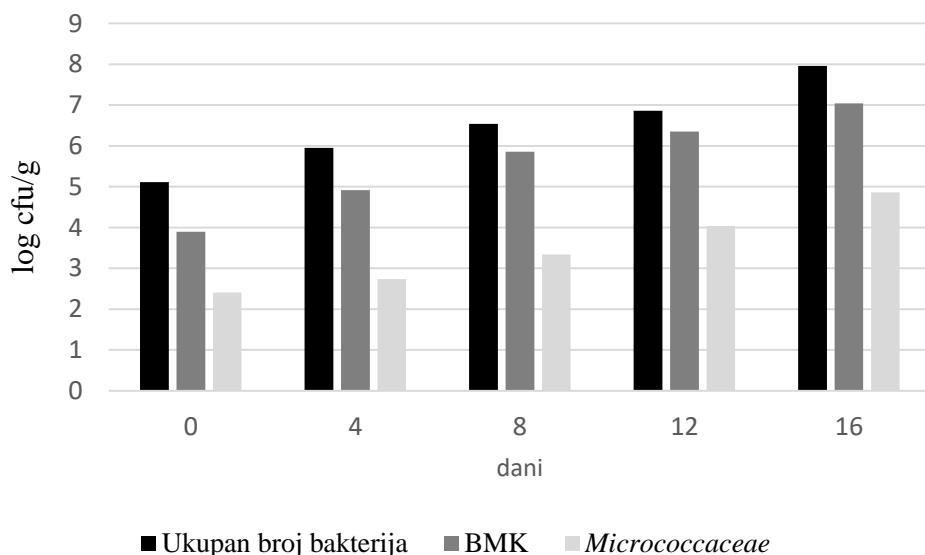
Uslovi temperature tokom proizvodnje Njeguške kobasicice, a naročito oni tokom prve polovine sušenja ( $>20^{\circ}\text{C}$ ) povoljno utiču na formiranje biogenih amina od strane mezofilnih bakterija za koje se navodi da imaju optimalnu aktivnost pri uslovima temperature između  $20^{\circ}\text{C}$  i  $37^{\circ}\text{C}$  (EFSA, 2011). Prema podacima Evropske Agencije za Bezbednost Hrane visok sadržaj natrijum-hlorida utiče na smanjenje aktivnosti pojedinih dekarboksilaza koje pomažu proces dekarboksilacije aminokiselina (EFSA, 2011). Sa druge strane, u uslovima niske pH (5,0) proizvodnja tiramina od strane određenih bakterija biva povećana u odnosu na istu pri višim vrednostima pH (5,8 i 6,2) (Fernández i sar., 2007). Prema tome, relativno visoka pH vrednost Njeguške (5,54) i relativno visok sadržaj natrijum-hlorida (4,35%) mogu biti jedan od razloga za niži sadržaj biogenih amina u Njeguškoj kobasici.

### 5.2.3. Mikrobiološka analiza

Promena broja ukupnih bakterija, BMK i mikrokoka (*Micrococcaceae*) tokom sušenja Njeguške kobasicice prikazan je na grafiku br. 11. Početan broj ukupnih bakterija (5,09 log cfu/g), broj BMK

(3,88 log cfu/g) i broj mikrokoka (2,41 log cfu/g) značajno se povećao tokom proizvodnog procesa da bi dostigao krajnje vrednosti od 7,98 log cfu/g, 7,04 log cfu/g i 4,87 log cfu/g, redosledno. Ukupan broj bakterija u Njeguškoj kobasici sličan je broju koji su Demirok Soncu i sar. (2018) našli u sudžuku, ali niži od onog prijavljenog za čorizo i Harbin kobasicu (Jixin Chen i sar., 2019; Pateiro i sar., 2015). U većini Evropskih kobasicica dominiraju sojevi *Lactobacillus sakei* i *Lactobacillus curvatus* čija se uloga ogleda u proizvodnji organskih kiselina, pre svega mlečne, i isparljivih jedinjenja (Aquilanti i sar., 2016). Broj BMK u krajnjem proizvodu sličan je vrednostima prijavljenim za druge slabo kisele fermentisane kobasicice koje se suše na nižim temperaturama (Iacumin i sar., 2020; Palavecino Prpich i sar., 2015).

Konačan broj mikrokoka bio je viši od onog prijavljenog za grčku kobasicu kod koje je za fermentaciju takođe bila zadužena autohtona mikroflora (Baka i sar., 2011). Sa druge strane, broj mikrokoka bio je niži od broja prijavljenog za sudžuk i argentinsku fermentisanu suvu kobasicu koji se kretao u intervalu od 5,5 log cfu/g do 7,93 log cfu/g (Demirok Soncu i sar., 2018; Palavecino Prpich i sar., 2015). Ukupan broj bakterija pokazao je jaku zavisnost od broja BMK ( $r=0,94$ ) i mikrokoka ( $r=0,91$ ). Ovi rezultati su u saglasnosti sa prethodno objavljenim rezultatima Lorenzo i sar. (2012 koji su prijavili još jaču zavisnost ( $P < 0,01$ ) ukupnog broja bakerija sa brojem BMK ( $r=0,94$ ) i brojem mikrokoka ( $r=0,93$ ).



**Grafik 11.** Promena broja (log cfu/g) ukupnih bakterija, bakterija mlečne kiseline (BMK) i mikrokoka (*Micrococcaceae*).

Rast i razmnožavanje bakterija u fermentisanim kobasicama je velikim delom limitirano uslovima vrednosti pH i  $a_w$ . Pri uslovima niskih vrednosti pH i  $a_w$ , proteolitička i lipolitička aktivnost mikrokoka i *Staphylococcus spp.* je povećana što doprinosi nastanku isparljivih jedinjenja koja utiču na formiranje arome proizvoda (Demirok Soncu i sar., 2018).

#### 5.2.4. Boja

Boja predstavlja jednu od prvih senzornih karakteristika koju kupac zapaža prilikom kupovine. Stoga, bitno je da istaknemo značaj boje površine kobasicice tj. njenog omotača što je naročito važno u slučaju Njeguške kobasicice i čajne kobasicice jer se često prodaju u komadu. Međutim, u stručnoj i naučnoj literaturi prisutan je nedostatak podataka o boji površine fermentisanih kobasicica. Vreme sušenja je značajno ( $P < 0,05$ ) uticalo na parametre boje površine kobasicice (Tabela 10). Svetloća ( $L^*$ ) površine

smanjila se tokom sušenja sa vrednosti 54,88 na 36,11, dok se udeo crvene boje (a\*) i žute (b\*) boje povećao sa početnih vrednosti od 13,33 i 12,89 do 18,00 i 16,11, redosledno.

**Tabela 10.** Promene u parametrima boje površine Njeguške kobasice, delova mesa i masnog tkiva na preseku kobasice (srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija).

		Vreme sušenja (dani)				
		0	4	8	12	16
Meso	L*	49,33 $\pm$ 1,73 <sup>a</sup>	44,44 $\pm$ 1,24 <sup>b</sup>	41,11 $\pm$ 0,33 <sup>c</sup>	41,67 $\pm$ 0,50 <sup>c</sup>	39,33 $\pm$ 1,80 <sup>d</sup>
	a*	30,89 $\pm$ 0,78 <sup>a</sup>	34,89 $\pm$ 0,60 <sup>b</sup>	32,22 $\pm$ 0,44 <sup>c</sup>	31,44 $\pm$ 0,53 <sup>ac</sup>	35,11 $\pm$ 0,78 <sup>b</sup>
	b*	13,67 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>	13,00 $\pm$ 0,50 <sup>ab</sup>	12,44 $\pm$ 0,53 <sup>bc</sup>	10,67 $\pm$ 0,50 <sup>d</sup>	13,67 $\pm$ 0,50 <sup>ae</sup>
Masno tkivo	L*	74,89 $\pm$ 0,78 <sup>a</sup>	75,89 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	73,11 $\pm$ 1,05 <sup>b</sup>	73,22 $\pm$ 0,83 <sup>b</sup>	70,11 $\pm$ 1,05 <sup>c</sup>
	a*	6,89 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	9,33 $\pm$ 0,50 <sup>b</sup>	9,33 $\pm$ 0,50 <sup>b</sup>	9,67 $\pm$ 0,50 <sup>b</sup>	9,22 $\pm$ 0,44 <sup>b</sup>
	b*	4,00 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>	2,00 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	0,56 $\pm$ 0,52 <sup>c</sup>	-2,33 $\pm$ 0,50 <sup>d</sup>	-2,22 $\pm$ 0,44 <sup>d</sup>
Površina	L*	54,78 $\pm$ 0,67 <sup>a</sup>	51,56 $\pm$ 0,53 <sup>b</sup>	43,67 $\pm$ 0,50 <sup>c</sup>	33,67 $\pm$ 0,50 <sup>d</sup>	36,11 $\pm$ 0,60 <sup>e</sup>
	a*	13,33 $\pm$ 0,71 <sup>a</sup>	20,33 $\pm$ 0,71 <sup>b</sup>	18,11 $\pm$ 0,33 <sup>c</sup>	19,22 $\pm$ 0,44 <sup>d</sup>	18,00 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>
	b*	12,89 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	16,00 $\pm$ 0,71 <sup>b</sup>	15,11 $\pm$ 0,60 <sup>c</sup>	13,56 $\pm$ 0,73 <sup>a</sup>	16,11 $\pm$ 0,33 <sup>b</sup>

<sup>a-e</sup> Vrednosti u istom redu praćeni različitim slovima značajno se razlikuju ( $P < 0,05$ ).

Slične konačne L\* vrednosti prijavili su Sucu i Turp (2018) za sudžuk, dok su a\* i b\* vrednosti bile nešto niže od onih nađenih za Njegušku. Vrednosti svetloće (L\*) površine Njeguške kobasice bile su u pozitivnoj korelaciji sa vrednostima a<sub>w</sub> ( $r=0,94$ ) i sadržajem vlage ( $r=0,96$ ), ali u isto vreme u negativnoj sa kalom sušenja ( $r=-0,89$ ). Vreme sušenja pokazalo je statistički značajan ( $P < 0,05$ ) efekat na parametre boje mesa i masnog tkiva preseka kobasica. Međutim, promene boje bile su izraženije na delovima kobasice gde su se nalazili komadići mesa. Vrednosti svetloće za meso i masno tkivo, kao i vrednosti b\* za masno tkivo značajno ( $P < 0,05$ ) su se smanjili tokom procesa zrenja. Sa druge strane, vrednosti a\* za delove mesa i masnog tkiva pokazale su rastući trend, dok su vrednosti b\* mesnih delova preseka ostali na sličnim vrednostima kao i na dan punjenja kobasica.

Rezultati pokazuju jaku korelacionu zavisnost ( $P < 0,01$ ) svetloće (L\*) mesa sa vrednostima a<sub>w</sub> ( $r=0,85$ ), sadržajem vlage ( $r=0,88$ ) i kalom sušenja ( $r=-0,79$ ). Slično, L\* i b\* vrednosti izračunate za masno tkivo bile su u pozitivnoj korelaciji sa vrednostima a<sub>w</sub> ( $r=0,82$  i  $r=0,95$ , redosledno) i sadržajem vlage ( $r=0,82$  i  $r=0,96$ , redosledno) i u negativnoj sa kalom sušenja ( $r=-0,88$  i  $r=-0,92$ , redosledno). Na kraju proizvodnje, L\*, a\* i b\* vrednosti mesa i masnog tkiva bile su relativno slične onima prikazanim u studiji Tomasevic i sar. (2019) za svinjsku fermentisanu kobasicu.

### 5.2.5. Analiza teksture

Vrednosti tvrdoće, gumoznosti i žvakljivosti Njeguške kobasice konstantno su se povećavale tokom sušenja (Tabela 11). Sa druge strane, vrednosti elastičnosti i kohezivnosti značajno su se smanjile ( $P < 0,05$ ) tokom prva četiri dana sušenja, nakon čega su se povećale do dvanaestog dana. Sličan trend primećen je i od strane drugih autora koji su prijavili više vrednosti elastičnosti u gotovom proizvodu od onih nađenih za Njegušku (Jiaxin Chen i sar., 2019; Lorenzo i sar., 2012). Rezultati su pokazali jaku pozitivnu korelaciju ( $r=0,97$ ;  $P<0,01$ ) između elastičnosti i kohezivnosti. Na kraju proizvodnje, vrednosti tvrdoće (65,59 N) i žvakljivosti (19,20 N) Njeguške kobasice bile su niže od onih prijavljenih za većinu španskih kobasicica (Herrero i sar., 2007), ali slične vrednostima nađenim za Harbin kobasicu (Jiaxin Chen i sar., 2019; Hu i sar., 2019). Niske vrednosti tvrdoće Njeguške kobasice mogu biti objašnjene nalazima Gómez i Lorenzo (2013), koji su primetili da viši sadržaj masti utiče na niže vrednosti tvrdoće i obratno. Ovo je potvrđeno i u eksperimentu sa čajnom kobasicom u okviru

ove doktorske disertacije. Kako se u proizvodnji Njeguške kobasice koristi relativno visok sadržaj čvrstog masnog tkiva, niske vrednosti tvrdoće bile su očekivane.

Sadržaj vlage i  $a_w$  vrednost bili su u negativnoj korelaciji ( $P < 0,01$ ) sa tvrdoćom ( $r=-0,98$  i  $r=-0,98$ , redosledno), žvakljivošću ( $r=-0,99$  i  $r=-0,98$ , redosledno) i gumoznošću ( $r=-0,98$  i  $r=-0,98$ , redosledno). Nešto niži korelacioni koeficijenti prijavljeni su od strane (Lorenzo i sar., 2012) za kobasice proizvedene od konjskog mesa. Sa druge strane, kalo sušenja bio je u pozitivnoj korelaciji sa tvrdoćom ( $r=0,99$ ), gumoznošću ( $r=0,99$ ) i žvakljivošću ( $r=0,98$ ).

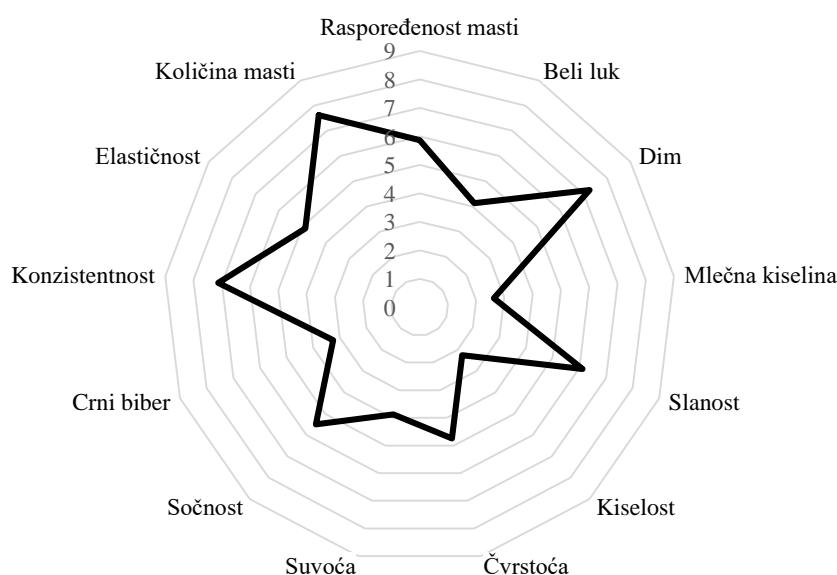
**Tabela 11.** Promena parametara teksture Njeguške kobasice tokom procesa sušenja (srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija).

	Vreme sušenja (dani)				
	0	4	8	12	16
Tvrdoća (N)	2,58 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	7,21 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	29,96 $\pm$ 1,06 <sup>c</sup>	41,29 $\pm$ 1,82 <sup>d</sup>	65,59 $\pm$ 2,03 <sup>e</sup>
Elastičnost	0,49 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,47 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,64 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,66 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	0,56 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>
Kohezivnost	0,46 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,38 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,57 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,59 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	0,50 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>
Gumoznost (N)	1,11 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	3,02 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	15,20 $\pm$ 0,20 <sup>c</sup>	21,25 $\pm$ 0,33 <sup>d</sup>	33,60 $\pm$ 1,03 <sup>e</sup>
Žvakljivost (N)	0,52 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	1,43 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	10,10 $\pm$ 0,39 <sup>c</sup>	14,12 $\pm$ 0,53 <sup>d</sup>	19,12 $\pm$ 0,36 <sup>e</sup>

<sup>a-e</sup> Vrednosti u istom redu praćeni različitim slovima značajno se razlikuju ( $P < 0,05$ ).

### 5.2.6. Senzorna analiza

Rezultati senzorne karakterizacije Njeguške kobasice prikazani su na grafiku br. 12. Srednje vrednosti dobijene za intenzitet mirisa mlečne kiseljine (2,62) i ukupne kiselosti (2,25) bile su relativno niske, što je u skladu sa vrednostima merenja pH vrednosti. Ocjenjivači su kao najintenzivniji miris naveli dim (7,25), pa potom beli luk i crni biber koji su ujedno i jedini korišćeni začini prilikom proizvodnje Njeguške kobasice. Niske vrednosti tvrdoće utvrđene pomoću analizatora teksture potvrđene su od strane senzornog panela koji je ocenio ovaj parametar sa srednjom ocenom (4,75).



**Grafik 12.** Rezultati senzorne karakterizacije Njeguške kobasice.

Izgled preseka predstavlja vrlo važno svojstvo Njeguške kobasice, a određuju ga boja, količina masnog tkiva, rasporedjenost masnog tkiva, kao i povezanost mesa i masnog tkiva. Svi nabrojani parametri zajedno sa intenzitetom slanog ukusa ocenjeni su visokom ocenom. Zbog visokog sadržaja masnog tkiva, Njeguška se može koristiti kao model kobasica za smanjenje količine masnog tkiva ili njene zamene biljnim uljima u formi različitih gelova. Rezultati ispitivanja Njeguške kobasice dobijeni u okviru ove doktorske disertacije od velikog su značaja za zaštitu imena ili oznake geografskog porekla ovog tradicionalnog proizvoda. U prošlosti, na našim prostorima nastao je veliki broj proizvoda od mesa kao posledica duge istorije stočarstva u Srbiji. Faktori poput različitih sirovina, začina, klime, religije i tradicije stvorili su veliku raznolikost među ovim proizvodima. Njeguška se, kao i druge mediteranske kobasice, može smatrati više kao suva nego fermentisana kobasica zbog ograničene fermentacije koja je uslovljena niskim temperaturama u doba godine kada se tradicionalno proizvodi. Odlikuje se malim promerom omotača, dobroj povezanosti grubo usitnjenoj mesa i masnog tkiva, visokim sadržajem masti, niskom aktivnošću vode i izraženim ukusom na dim. Krajnji proizvod se može opisati kao fermentisana kobasica sa sadržajem vlage ispod 35%, aktivnošću vode oko 0,8 i vrednošću pH oko 5,5. Visok inicijalan sadržaj masti u Njeguškoj kobasici uslovljava niske vrednosti kala sušenja (manje od 37%) i niske vrednosti tvrdoće i žvakljivosti u poređenju sa većinom drugih fermentisanih kobasic. Nizak sadržaj biogenih amina treba smatrati kao pozitivan pokazatelj odsustva neželjenih mikroorganizama za što je u prvom predu zasluženo poštovanje dobre proizvođačke i higijenske prakse. Buduća istraživanja je potrebno usmeriti na karakterizaciju autohtone mikroflore Njeguške kobasice sa ciljem razvoja starter kultura i komercijalizacije proizvodnje. Značaj karakterizacije Njeguške kobasice, kao i razumevanje dinamike fizičko-hemijskih i drugih promena tokom proizvodnje je od suštinskog značaja u pogledu standardizacije proizvoda kroz odgovarajuće nacionalne standarde kao prvi korak ka priznavanju i zaštiti oznake porekla na evropskom nivou.

### 5.3. Rezultati ispitivanja čajne kobasice

#### 5.3.1. Anketa

Uzorak ankete sastojao se od ukupno 854 ispitanika od kojih su 54,8% činile osobe ženskog, a 45,2% osobe muškog pola. Od ukupnog broja učesnika 63,7% ispitanika imalo je manje od 40 godina, a medijanu je činila kategorija ispitanika između 30–39 godina. Većina ispitanika bila je fakultetski obrazovana (53,2%), dok je 35,2% učesnika kao najviši vid obrazovanja imalo srednju stručnu spremu. Studenti su činili 9,8% uzorka, a ispitanika sa osnovnim obrazovanjem bilo je 1,8%. Većina učesnika bila je zaposlena (80,3%), praćena grupom nezaposlenih ispitanika (16,9%) i penzionera (2,8%). Najveći broj bio je iz Beograda (71,2%), zatim iz Šumadije i Zapadne Srbije (12,2%), Južne i Istočne Srbije (9,6%) i Vojvodine (7,0%). Rezultati ankete otkrili su da većina ispitanika (41,9%) konzumira fermentisane kobasice jednom nedeljno, dok ih njih 29,9% i 26,8% konzumira jednom u dva ili tri dana i jednom mesečno, redosledno.

Što se mesečne konzumacije tiče, najfrekventniji odgovori bili su manje od 200 g (42,4%), između 200–500 g (37,2%) i između 500–1000 g (13,8%). Popularnost čajne kobasice u Srbiji potvrđena je anketom u kojoj je 29,5% učesnika identifikovalo čajnu kobasicu kao njihov prvi izbor prilikom odabira fermentisanih kobasicica, dok je čak 28,1% i 19,7% ispitanika identifikovalo čajnu kao drugi i treći izbor, redosledno. Većina ispitanika (82,7%) veruje da prekomereni unos masti negativno utiče na zdravlje ljudi. Mesnatost je propoznata kao važno svojstvo od strane 63,0% ispitanika koji smatraju da čajna kobasicica treba da sadrži što je moguće manje masnog tkiva. Što se izgleda kobasicice tiče, 58,1% ispitanika ne smatra naboranost površine kobasicice važnim svojstvom. Sa druge strane, mišljenja su podeljana po pitanju da li povećanje tvrdoće čajne kobasicice smatraju kao negativnu promenu. Međutim, većina potrošača (78,0%) je spremna da skuplje plati kobasicu proizvedenu sa višim sadržajem mesa, odnosno nižim sadržajem masnog tkiva.

#### 5.3.2. Fizičko-hemijske analize

Krajnje vrednosti pH za sve tri serije čajne kobasicice kretale su se u intervalu karakterističnom za kobasicice proizvedene sa dodatkom starter kultura koje su bile podvrgнуте kontrolisanim uslovima temperature i RVV tokom procesa proizvodnje. Rezultati merenja pH vrednosti ukazuju da se pH vrednost tri šarže čajne kobasicice u određenoj meri međusobno značajno razlikovala. Najniže vrednosti pH utvrđene su u kobasicama proizvedenim sa dodatkom 25% čvrstog masnog tkiva (HF), nešto niže u kobasicama formulisanim sa 17,5% masnog tkiva i najniže u kobasicama sa 10% masnog tkiva (LF) (Tabela 12 i 13). Sa druge strane, rezultati ukazuju da što je viši sadržaj masnog tkiva u formulaciji kobasicice, niži je sadržaj proteina, a veći sadržaj masti u proizvodu (Tabela 12 i 13).

Kako je čajna kobasicica proizvedena sa tri različita nivoa masnog tkiva, početni sadržaj vlage značajno ( $P < 0,01$ ) se razlikovao među kobasicama različitih serija. Razlog za to se nalazi u činjenici da meso sadrži više vode od masnog tkiva što je prijavljeno u velikom broju studija (H. Mora-Gallego i sar., 2014; Muguerza i sar., 2002; Simunovic i sar., 2019; Yim i sar., 2016). Što je viši udeo mesa u formulaciji, veći je inicijalan sadržaj vlage u kobasicama. Kinetika sušenja, odnosno brzina isparavanja vode iz kobasicica formulisanih sa 10% masnog tkiva (LF) bila je najveća, na šta ukazuju visoke vrednosti kala sušenja (Tabela 12 i 13). Takođe, brzina sušenja u kobasicama proizvedenim sa 17,5% masnog tkiva (MF) bila je značajno veća ( $P < 0,01$ ) nego u kobasicama formulisanim sa 25% masnog tkiva (HF). Može se zaključiti da što je sadržaj masnog tkiva u nadevu fermentisanih kobasicica niži, veća je brzina sušenja i obratno. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima Cullere i sar. (2020) i Muguerza i sar. (2002), koji su ispitivali uticaj smanjenja masti na različite parametre suvih kobasicica. Sadržaj vlage u MF i LF kobasicama pao je ispod zakonskog limita od 35% nakon 28 dana sušenja („Sl. glasnik RS”, br. 50/2019). Ovaj podatak ukazuje na činjenicu da sa zakonske tačke gledišta sušenje čajne kobasicice u eksperimentalnim uslovima prikazanim u ovoj disertaciji

može da se skrati za sedam dana tj. da traje ukupno 28 dana. Sa druge strane, sadržaj vlage kobasica iz HF šarže koja je služila kao kontrola pao je ispod 35% tek nakon 35 dana sušenja. Rezultati pokazuju jaku ( $P < 0,01$ ) zavisnosti sadržaja vlage i kala sušenja ( $r=0,99$ ).

Sadržaj masnog tkiva u formulaciji čajne kobasice imao je značajan ( $P < 0,01$ ) uticaj na sadržaj pepela. Najviši sadržaj pepela utvrđen je u kobasicama iz LF šarže, zatim u MF kobasicama, dok je najniži sadržaj pepela izmeren u HF kobasicama. Što je sadržaj masnog tkiva u kobasicama niži, viši je sadržaj pepela i obratno. Slični rezultati prijavljeni su od strane Muguerza i sar. (2002) koji su ispitivali uticaj sadržaja masti na različite parametre kvaliteta fermentisanih suvih kobasica.

### 5.3.3. Oksidativna stabilnost

Oksidacija lipida predstavlja jedan od najčešćih defekata kvaliteta proizvoda od mesa. Ona rezultira u nastanku užeglog ukusa i promene boje proizvoda što je vrlo nepoželjno sa stanovišta potrošača. Primarni produkti oksidacije lipida praćeni su određivanjem peroksidnog broja kao pokazatelja formiranja peroksidnih i hidroperoksidnih grupa. Na kraju procesa proizvodnje, vrednosti peroksidnog broja značajno ( $P < 0,01$ ) su se razlikovale među ispitivanim serijama, a najviše vrednosti utvrđene su u kobasicama HF serije, zatim u MF kobasicama, dok su najniže vrednosti izmerene u LF kobasicama (Tabela 12 i 13). Za hidroperokside se smatra da su jedinjenja bez ukusa i mirisa pa tako ne ispoljavaju negativan uticaj na senzorni kvalitet finalnog proizvoda. Međutim, hidroperoksidi su vrlo nestabilni i brzo reaguju formirajući pri tome sekundarne produkate oksidacije lipida kao što su aldehidi, ketoni, alkoholi i epoksiidi koji su direktno odgovorni za narušavanje senzornog kvaliteta proizvoda (Domínguez i sar., 2019). Stoga, sadržaj sekundarnih produkata oksidacije lipida praćen je određivanjem sadržaja malonaldehyda. Sadržaj malonaldehyda ostao na relativno niskim vrednostima tokom celokupnog procesa proizvodnje. Sadržaj masti nije značajno ( $P < 0,01$ ) uticao na sadržaj malonaldehyda.

Dobijeni rezultati su u skladu sa rezultatima Bolumar i sar. (2015) koji su prijavili da sadržaj masti nije imao značajjan uticaj na sadržaj malonaldehyda. Sa druge strane, sadržaj masti imao je značajjan ( $P < 0,01$ ) efekat na kiselinski broj koji se povećavao sa smanjenjem sadržaja masti. Prema standardu ISO 660:2009, kiselinski broj se može prikazati i kao procenat sadržaja slobodnih masnih kiselina. U skladu sa tim, kobasice iz serije LF imale su najveći sadržaj masnih kiselina (Tabela 12 i 13). Ova metoda nema mogućnost razlikovanja neorganskih kiselina, masnih kiselina i organskih kiselina pa je zbog toga ove rezultate potrebno uzeti sa rezervom.

### 5.3.4. Mikrobiološka analiza

Promene ukupnog broja bakterija i BMK prikazane su na graficima br. 3 i 4. Sadržaj masti nije značajno ( $P < 0,01$ ) uticao na broj ispitivanih mikroorganizama tokom procesa proizvodnje. Ukupan broj bakterija u tek napunjениm kobasicama kretao se od 3.86 do 4.91 log cfu/g i značajno ( $P < 0,01$ ) se povećao do vrednosti od oko 9.90 log cfu/g. Slično tome, vreme zrenja pokazalo je značajjan efekat na broj BMK koji se postepeno povećao od vrednosti od oko 3.80 log cfu/g do oko 9.35 log cfu/g na kraju procesa zrenja.

**Tabela 12.** Promena hemijskih parametara u ispitivanim uzorcima čajne kobasice proizvedenih sa različitim sadržajem masnog tkiva tokom procesa proizvodnje (srednja vrednost ± standardna devijacija).

	Vreme sušenja (dani)																	
	0			SEM			7			SEM			14			SEM		
	HF	MF	LF	HF	MF	LF	HF	MF	LF	HF	MF	LF	HF	MF	LF			
pH	5,39 <sup>1a</sup>	5,39 <sup>1a</sup>	5,40 <sup>1a</sup>	0,00	4,95 <sup>1b</sup>	5,05 <sup>2b</sup>	5,13 <sup>3b</sup>	0,03	4,93 <sup>1b</sup>	4,99 <sup>2c</sup>	5,11 <sup>3c</sup>	0,03						
a <sub>w</sub>	0,939 <sup>1a</sup>	0,943 <sup>1a</sup>	0,943 <sup>1a</sup>	0,00	0,931 <sup>1b</sup>	0,930 <sup>1b</sup>	0,932 <sup>1b</sup>	0,00	0,915 <sup>1c</sup>	0,901 <sup>2c</sup>	0,894 <sup>3c</sup>	0,00						
Sadržaj proteina (% SM)	33,14 <sup>1a</sup>	39,70 <sup>2a</sup>	46,17 <sup>3a</sup>	1,89	34,15 <sup>1a</sup>	39,13 <sup>2a</sup>	46,10 <sup>3a</sup>	1,74	33,91 <sup>1a</sup>	39,00 <sup>2a</sup>	45,27 <sup>3a</sup>	1,65						
Sadržaj masti (% SM)	59,00 <sup>1a</sup>	55,59 <sup>2a</sup>	44,46 <sup>3a</sup>	2,20	56,60 <sup>1b</sup>	52,61 <sup>2b</sup>	43,48 <sup>3ab</sup>	1,95	58,98 <sup>1a</sup>	54,00 <sup>2ab</sup>	45,82 <sup>3a</sup>	1,92						
Sadržaj vode (%)	54,94 <sup>1a</sup>	58,40 <sup>2a</sup>	61,93 <sup>3a</sup>	1,01	45,09 <sup>1b</sup>	50,35 <sup>2b</sup>	53,97 <sup>3b</sup>	1,29	42,48 <sup>1c</sup>	41,73 <sup>2c</sup>	40,27 <sup>3c</sup>	0,32						
Sadržaj pepela (%)	3,02 <sup>12a</sup>	2,95 <sup>1a</sup>	3,16 <sup>2a</sup>	0,03	3,54 <sup>1b</sup>	3,71 <sup>2b</sup>	3,78 <sup>3b</sup>	0,04	3,66 <sup>1b</sup>	4,16 <sup>2c</sup>	4,83 <sup>3c</sup>	0,17						
Kalo sušenja (%)					16,51 <sup>1a</sup>	22,84 <sup>2a</sup>	26,04 <sup>3a</sup>	2,22	22,34 <sup>1b</sup>	32,08 <sup>2b</sup>	37,43 <sup>3b</sup>	2,21						
Sadržaj malonaldehida (mg MAL/kg)	0,04 <sup>1a</sup>	0,03 <sup>1a</sup>	0,04 <sup>1a</sup>	0,00	0,04 <sup>1ac</sup>	0,05 <sup>1ab</sup>	0,06 <sup>1ab</sup>	0,00	0,05 <sup>1abc</sup>	0,06 <sup>1ab</sup>	0,07 <sup>1ab</sup>	0,00						
Kiselinski broj (mg KOH/g)	0,93 <sup>1a</sup>	1,55 <sup>2a</sup>	1,99 <sup>3a</sup>	0,15	1,00 <sup>1a</sup>	1,65 <sup>2a</sup>	1,66 <sup>3b</sup>	0,11	2,32 <sup>1b</sup>	3,47 <sup>2b</sup>	4,33 <sup>3c</sup>	0,29						
Peroksidni broj (meq/kg)	4,24 <sup>1a</sup>	4,68 <sup>2a</sup>	4,14 <sup>1a</sup>	0,08	4,30 <sup>1a</sup>	4,74 <sup>2a</sup>	3,21 <sup>3b</sup>	0,23	3,54 <sup>1b</sup>	1,52 <sup>2b</sup>	0,90 <sup>3c</sup>	0,40						

HF – 25% masnog tkiva; MF – 17,5% masnog tkiva; LF - 10% masnog tkiva; SEM – standardna greška

<sup>1-3</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istom danu sušenja) praćene različitim brojem značajno se razlikuju ( $P<0,01$ )

<sup>a-f</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istoj seriji) praćene različitim slovom značajno se razlikuju ( $P<0,01$ )

**Tabela 13.** Promena hemijskih parametara u ispitivanim uzorcima čajne kobasice proizvedenih sa različitim sadržajem masnog tkiva tokom procesa proizvodnje (srednja vrednost ± standardna devijacija).

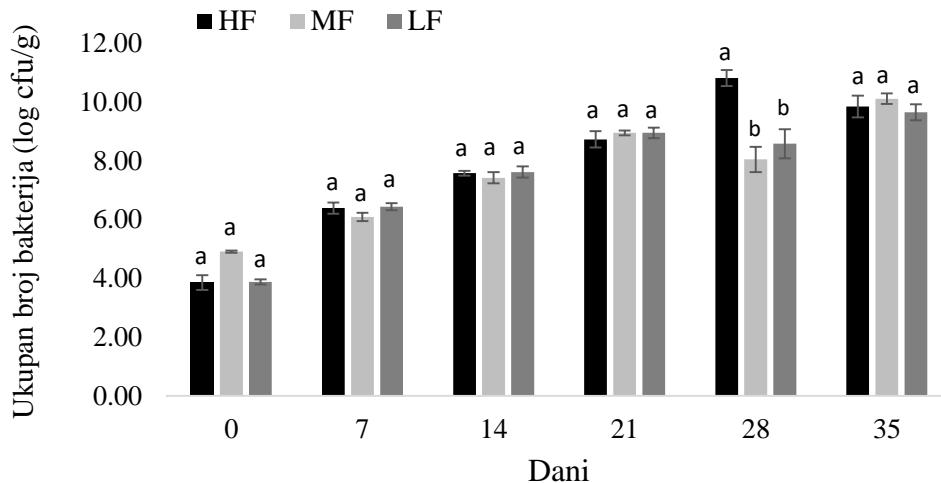
	Vreme sušenja (dani)																	
	21			SEM			28			SEM			35			SEM		
	HF	MF	LF	HF	MF	LF	HF	MF	LF	HF	MF	LF	HF	MF	LF			
pH	5,01 <sup>1c</sup>	5,11 <sup>2d</sup>	5,27 <sup>3d</sup>	0,04	4,95 <sup>1b</sup>	5,05 <sup>2b</sup>	5,19 <sup>3e</sup>	0,03	5,08 <sup>1d</sup>	5,15 <sup>2e</sup>	5,21 <sup>3f</sup>	0,02						
a <sub>w</sub>	0,908 <sup>1d</sup>	0,890 <sup>2d</sup>	0,866 <sup>3d</sup>	0,01	0,890 <sup>1e</sup>	0,872 <sup>2e</sup>	0,846 <sup>3e</sup>	0,01	0,875 <sup>1f</sup>	0,824 <sup>2f</sup>	0,807 <sup>3f</sup>	0,01						
Sadržaj proteina (% SM)	34,21 <sup>1a</sup>	39,12 <sup>2a</sup>	44,73 <sup>3a</sup>	1,52	32,90 <sup>1a</sup>	40,05 <sup>2a</sup>	46,05 <sup>3a</sup>	1,90	34,18 <sup>1a</sup>	40,33 <sup>2a</sup>	45,22 <sup>3a</sup>	1,60						
Sadržaj masti (% SM)	55,52 <sup>1bc</sup>	50,92 <sup>2bc</sup>	44,34 <sup>3ab</sup>	1,62	59,15 <sup>1a</sup>	49,58 <sup>2cd</sup>	44,31 <sup>3ab</sup>	2,18	57,22 <sup>1b</sup>	48,38 <sup>2d</sup>	44,72 <sup>3a</sup>	1,86						
Sadržaj vode (%)	40,58 <sup>1d</sup>	37,67 <sup>2d</sup>	35,18 <sup>3d</sup>	0,78	36,28 <sup>1e</sup>	34,43 <sup>2e</sup>	32,70 <sup>3e</sup>	0,52	33,60 <sup>1f</sup>	30,76 <sup>2f</sup>	29,72 <sup>3f</sup>	0,58						
Sadržaj pepela (%)	4,12 <sup>1c</sup>	4,72 <sup>2d</sup>	5,28 <sup>3d</sup>	0,17	4,06 <sup>1c</sup>	4,86 <sup>2d</sup>	5,67 <sup>3e</sup>	0,23	4,54 <sup>1d</sup>	5,34 <sup>2f</sup>	5,84 <sup>3e</sup>	0,19						
Kalo sušenja (%)	25,42 <sup>1c</sup>	35,92 <sup>2c</sup>	41,30 <sup>3c</sup>	2,34	28,23 <sup>1d</sup>	38,58 <sup>2d</sup>	44,43 <sup>3d</sup>	2,37	30,56 <sup>1e</sup>	40,98 <sup>2e</sup>	46,98 <sup>3e</sup>	2,40						
Sadržaj malonaldehida (mg MAL/kg)	0,05 <sup>1ac</sup>	0,07 <sup>12b</sup>	0,08 <sup>2b</sup>	0,00	0,08 <sup>1bc</sup>	0,06 <sup>1b</sup>	0,08 <sup>1b</sup>	0,02	0,07 <sup>1bc</sup>	0,08 <sup>1b</sup>	0,07 <sup>1ab</sup>	0,00						
Kiselinski broj (mg KOH/g)	3,71 <sup>1c</sup>	3,63 <sup>1c</sup>	4,76 <sup>2d</sup>	0,18	5,84 <sup>1d</sup>	5,58 <sup>2d</sup>	7,65 <sup>3e</sup>	0,32	6,23 <sup>1e</sup>	6,72 <sup>2f</sup>	7,62 <sup>3e</sup>	0,20						
Peroksidni broj (meq/kg)	2,35 <sup>1c</sup>	1,65 <sup>2c</sup>	0,95 <sup>3cd</sup>	0,20	2,63 <sup>1d</sup>	1,63 <sup>2c</sup>	1,05 <sup>3de</sup>	0,23	2,34 <sup>1c</sup>	1,93 <sup>2d</sup>	1,08 <sup>3e</sup>	0,19						

HF – 25% masnog tkiva; MF – 17,5% masnog tkiva; LF - 10% masnog tkiva; SEM – standardna greška

<sup>1-3</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istom danu sušenja) praćene različitim brojem značajno se razlikuju ( $P<0,01$ )

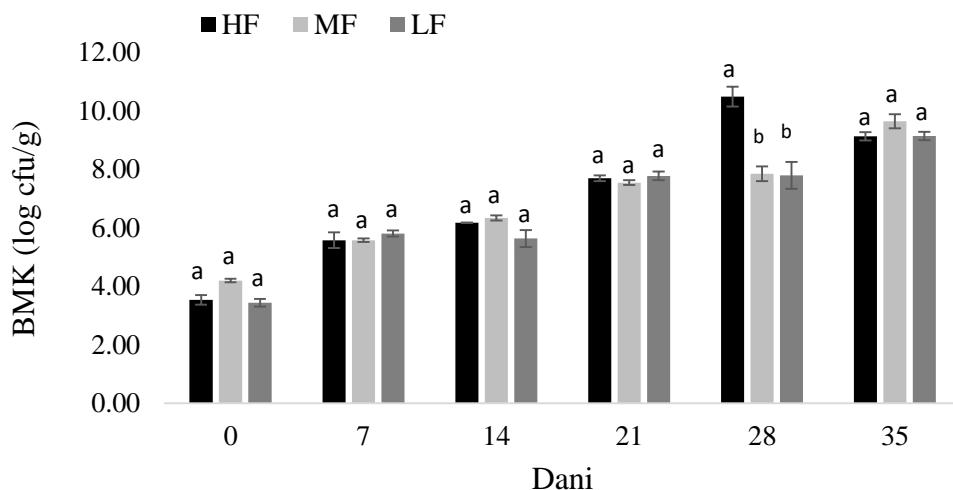
<sup>a-f</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istoj seriji) praćene različitim slovom značajno se razlikuju ( $P<0,01$ )

Ukupan broj bakterija, kao i broj BMK bio je sličan vrednostima prijavljenim od strane drugih autora za različite suve fermentisane kobasicice (Lorenzo i Franco, 2012; Lorenzo i sar., 2012; Simunovic i sar., 2021). Značajno viši broj ukupnih bakterija i BMK primećen je nakon 28 dana zrenja u kobasicama serije HF (Grafik 13 i 14).



**Grafik 13.** Promena u ukupnom broju (log cfu/g) bakterija u uzorcima čajne kobasice sa različitim sadržajem masnog tkiva tokom zrenja.

Međutim, nakon 35. dana zrenja nisu primećene značajne razlike u njihovom broju između različitih serija čajne kobasice. Ovo može biti objašnjeno činjenicom da su BMK najdominantnija flora u ukupnom broju bakterija pa se tako povišen broj ukupnih bakterija može pripisati povišenom broju BMK. Vreme sušenja imalo je značajan ( $P < 0,01$ ) efekat na povećanje broja bakterija koje je bilo najizraženije tokom prvih sedam dana zrenja.



**Grafik 14.** Promena u broju bakterija mlečne kiseline (BMK) u uzorcima čajne kobasice sa različitim sadržajem masnog tkiva tokom zrenja.

Relativno brz pad pH vrednosti posledica je aktivnosti mikroflore, u prvom redu dodatih starter kultura. Pored toga, dodatak glukoze obezbedio je odgovarajući supstrat bakterijama, a vrednosti temperature  $>20^{\circ}\text{C}$  i visoka aw vrednost početkom sušenja optimalne uslove za njihovo razmnožavanje i aktivnost. Slični rezultati primećeni su u eksperimentima sprovedenim od strane drugih autora za različite fermentisane suve kobasice (X. Hospital i sar., 2016; X. F. Hospital i sar., 2012; Xavier F. Hospital i sar., 2014; Lorenzo i Franco, 2012; Simunovic i sar., 2021).

### 5.3.5. Boja

U nedavnom istraživanju Tomasevic i sar. (2019) predložili su metodu za merenje boje mesa i proizvoda od mesa koja se zasniva na fotografisanju uzorka u osvetljenoj kutiji i kasnije primeni kompjuterskog softvera za dobijanje parametara boje. Glavna prednost ove metode ogleda se u njenoj mogućnosti da izmeri zasebno boju mesa i masnog tkiva na preseku fermentisanih kobasicica. Studija Tomasevic i sar. (2019) pokazala je da merenje boje tradicionalnim kolorimetrom nije najpogodnija tehnika za merenje boje proizvoda od mesa, a posebno proizvoda od mesa na čijem se preseku jasno razaznaju dve faze. Kao neke od primera možemo navesti fermentisane kobasicice, mortadelu, kranjsku kobasicu, alpsku i tirolsku kobasicu. Razlog za to se nalazi u prečniku aparature tradicionalnog kolorimetra koja nije dovoljno mala da obuhvati samo jednu fazu na preseku proizvoda. CVS metodom moguće je nezavisno izmeriti boju mesnog dela od boje i masnog tkiva, usled čega se dobijaju dva nezavisna seta podataka. U stručnoj i naučnoj literaturi nedostaju podaci o zasebnim parametrima boje mesa i masnog tkiva proizvoda od mesa. Zbog toga, rezultati dobijeni u okviru ove doktorske disertacije veoma su važni kao polazna osnova za buduća ispitivanja parametara boje tradicionalnih fermentisanih kobasicica u Srbiji.

Vrednosti svetloće ( $L^*$ ), udela crvene boje ( $a^*$ ) i žute boje ( $b^*$ ) merene nezavisno za delove mesa na preseku čajne kobasice, delove masnog tkiva i za površine prikazane su u tabelama 14 i 15. Sadržaj masti nije značajno uticao na ( $P < 0,01$ ) uticao na boju površine, delove mesa, kao i masnog tkiva preseka kobasica. Ovi rezultati nisu u saglasnosti sa rezultatima drugih istraživača za druge tipove fermentisanih suvih kobasicica (Bozkurt i Erkmen, 2004; Lorenzo i Franco, 2012; H. Mora-Gallego i sar., 2014; Yim i sar., 2016). U navedenim studijama, zapaža se da sa povećanjem sadržaja masti raste i svetloća ( $L^*$ ) proizvoda. Mogući razlog za ovakve rezultate jeste upotreba tradicionalnog kolorimetra, koji meri prosečnu boju površine na koju je postavljena aparatura za merenje. Kako se presek fermentisanih kobasicica sastoji od ravnomerno raspoređenih delova mesa i masnog tkiva, ovi uređaji nisu u mogućnosti da razlikuju ove dve faze. U slučaju kobasica sa većim sadržajem masnog tkiva površina aparature za merenje zahvata veći procenat masnog tkiva što utiče na dobijanje viših vrednosti svetloće ( $L^*$ ). Stoga, možemo zaključiti da merenje boje fermentisanih kobasicica kolorimetrom manje precizno i da rezultate dobijene ovom metodom treba uzeti sa rezervom. Razlog za to jeste taj što sadržaj masti utiče na percepciju svetloće preseka kobasica kod potrošača. Tradicionalni kolorimetrom meri prosek vrednosti parametara boje na koji je njegova apratura postavljena, dok je pomoću CVS-a moguće posebno izmeriti parametre boje mesnog i masnog dela preseka kobasice. Rezultati eksperimenta u okviru ove doktorske disertacije pokazali su pokazali da vreme sušenja značajno ( $P < 0,01$ ) utiče na parametre boje što je u saglasnosti sa rezultatima drugih autora za različite tipove fermentisanih kobasicica (Lorenzo i Franco, 2012; Lorenzo i sar., 2012; Simunovic i sar., 2021; Yim i sar., 2016). Vrednosti  $L^*$  mesnih delova na preseku čajne kobasice značajno ( $P < 0,01$ ) su se smanjile tokom sušenja. Vrednosti udela crvene boje ( $a^*$ ) komada mesa na preseku čajne kobasice ostala je na istim vrednostima kao i na početku procesa sušenja. Sa druge strane, vrednosti  $a^*$  masnog tkiva na preseku čajne kobasice blago su se povećavale u prvoj polovini sušenja da bi se kasnije smanjile do vrednosti nešto nižih od početnih.

**Tabela 14.** Promena parametara boje ispitivanih serija čajne kobasice sa različitim sadržajem masnog tkiva tokom prve polovine sušenja (srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija).

		Vreme sušenja (dani)																	
		0			SEM			7			SEM			14			SEM		
		HF	MF	LF	HF	MF	LF	HF	MF	LF	HF	MF	LF	HF	MF	LF			
Meso	L*	51,43 <sup>1a</sup>	51,57 <sup>1a</sup>	51,29 <sup>1a</sup>	0,66	49,86 <sup>1ab</sup>	51,71 <sup>1a</sup>	51,29 <sup>1a</sup>	1,47	43,71 <sup>1b</sup>	43,43 <sup>1b</sup>	40,57 <sup>1a</sup>	0,87						
	a*	39,14 <sup>1a</sup>	38,57 <sup>1a</sup>	39,43 <sup>1ac</sup>	0,63	35,86 <sup>1ab</sup>	35,43 <sup>1ab</sup>	35,71 <sup>1abc</sup>	0,54	33,86 <sup>1ab</sup>	32,71 <sup>1b</sup>	33,43 <sup>1bc</sup>	0,61						
	b*	15,71 <sup>1a</sup>	16,14 <sup>1a</sup>	16,86 <sup>1a</sup>	0,57	13,57 <sup>1a</sup>	12,14 <sup>1ab</sup>	14,14 <sup>1ab</sup>	0,60	13,71 <sup>1a</sup>	12,57 <sup>1ab</sup>	13,85 <sup>1ab</sup>	0,63						
	L*	81,57 <sup>1a</sup>	79,71 <sup>1ab</sup>	81,71 <sup>1a</sup>	0,51	78,57 <sup>1a</sup>	82,14 <sup>1b</sup>	81,71 <sup>1a</sup>	0,60	70,57 <sup>1b</sup>	68,86 <sup>1c</sup>	71,29 <sup>1b</sup>	0,94						
	a*	8,57 <sup>1ab</sup>	9,86 <sup>1a</sup>	7,86 <sup>1abc</sup>	0,41	9,57 <sup>1ab</sup>	7,86 <sup>1ab</sup>	8,14 <sup>1abc</sup>	0,38	12,86 <sup>1a</sup>	11,29 <sup>1a</sup>	9,71 <sup>1a</sup>	0,68						
	b*	1,14 <sup>1a</sup>	0,86 <sup>1a</sup>	0,57 <sup>1a</sup>	0,34	-0,29 <sup>1a</sup>	-1,14 <sup>1ab</sup>	-0,29 <sup>1ab</sup>	0,38	-1,29 <sup>1a</sup>	-1,14 <sup>1ab</sup>	-2,14 <sup>1ab</sup>	0,35						
Masno tkivo	L*	45,57 <sup>1a</sup>	44,57 <sup>1a</sup>	45,71 <sup>1a</sup>	0,84	25,57 <sup>1b</sup>	23,43 <sup>1b</sup>	23,86 <sup>1b</sup>	0,59	16,43 <sup>1c</sup>	16,29 <sup>1b</sup>	18,43 <sup>1bc</sup>	0,97						
	a*	45,29 <sup>1a</sup>	43,57 <sup>1a</sup>	43,57 <sup>1a</sup>	0,45	38,86 <sup>1b</sup>	36,14 <sup>12b</sup>	34,19 <sup>2b</sup>	0,57	26,57 <sup>1c</sup>	24,29 <sup>1c</sup>	23,43 <sup>1c</sup>	0,74						
	b*	19,57 <sup>1a</sup>	17,00 <sup>12ab</sup>	14,71 <sup>1a</sup>	0,61	26,71 <sup>1b</sup>	22,71 <sup>12a</sup>	18,71 <sup>2a</sup>	0,95	16,57 <sup>1a</sup>	13,43 <sup>1b</sup>	13,86 <sup>1a</sup>	0,76						

HF – 25% masnog tkiva; MF - 17.5% masnog tkiva; LF - 10% masnog tkiva; SEM – standardna greška

<sup>1-3</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istom danu sušenja) praćene različitim brojem značajno se razlikuju ( $P<0.01$ )

<sup>a-f</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istoj seriji) praćene različitim slovom značajno se razlikuju ( $P<0.01$ )

**Tabela 15.** Promena parametara boje ispitivanih serija čajne kobasice sa različitim sadržajem masnog tkiva tokom druge polovine sušenja (srednja vrednost ± standardna devijacija).

		Processing time (days)																	
		21			SEM			28			SEM			35			SEM		
		HF	MF	LF		HF	MF	LF		HF	MF	LF		HF	MF	LF			
Meso	L*	44,14 <sup>1b</sup>	42,86 <sup>1b</sup>	40,71 <sup>1a</sup>	0,89	45,57 <sup>1ab</sup>	44,29 <sup>1b</sup>	44,86 <sup>1a</sup>	0,71	44,57 <sup>1ab</sup>	45,71 <sup>1ab</sup>	45,86 <sup>1a</sup>	0,64						
	a*	32,86 <sup>1b</sup>	33,14 <sup>1b</sup>	32,14 <sup>1b</sup>	0,46	36,86 <sup>1ab</sup>	36,57 <sup>1ab</sup>	34,14 <sup>1bc</sup>	0,45	39,43 <sup>1a</sup>	36,57 <sup>1ab</sup>	37,43 <sup>1c</sup>	0,57						
	b*	12,86 <sup>1a</sup>	12,14 <sup>1ab</sup>	14,14 <sup>1ab</sup>	0,51	15,43 <sup>1a</sup>	15,71 <sup>1ab</sup>	13,57 <sup>1ab</sup>	0,41	12,29 <sup>1a</sup>	11,71 <sup>1b</sup>	11,57 <sup>1b</sup>	0,25						
Masno tkivo	L*	75,14 <sup>1ab</sup>	75,29 <sup>1a</sup>	72,57 <sup>1b</sup>	0,97	78,29 <sup>1ab</sup>	78,14 <sup>1ab</sup>	76,29 <sup>1ab</sup>	0,67	77,29 <sup>1ab</sup>	78,86 <sup>1ab</sup>	76,71 <sup>1ab</sup>	0,74						
	a*	11,14 <sup>1ab</sup>	9,14 <sup>1a</sup>	10,57 <sup>1a</sup>	0,61	9,29 <sup>1ab</sup>	8,14 <sup>1ab</sup>	9,86 <sup>1a</sup>	0,36	6,86 <sup>1b</sup>	4,71 <sup>1b</sup>	5,14 <sup>1c</sup>	0,38						
	b*	-1,29 <sup>1a</sup>	-2,00 <sup>1b</sup>	-2,71 <sup>1ab</sup>	0,46	-1,86 <sup>1a</sup>	-2,43 <sup>1b</sup>	-3,57 <sup>1b</sup>	0,31	-1,14 <sup>1a</sup>	-1,29 <sup>1ab</sup>	-1,86 <sup>1ab</sup>	0,39						
Površina	L*	16,00 <sup>1c</sup>	17,71 <sup>1b</sup>	15,57 <sup>1c</sup>	0,79	16,57 <sup>1c</sup>	17,57 <sup>1b</sup>	16,14 <sup>1c</sup>	0,54	15,86 <sup>1c</sup>	16,00 <sup>1b</sup>	17,71 <sup>1bc</sup>	0,74						
	a*	28,86 <sup>1cd</sup>	25,57 <sup>1c</sup>	23,86 <sup>1c</sup>	0,89	32,57 <sup>1d</sup>	29,57 <sup>1bc</sup>	28,57 <sup>1bc</sup>	1,38	30,71 <sup>1cd</sup>	27,43 <sup>1c</sup>	25,00 <sup>1bc</sup>	0,88						
	b*	18,29 <sup>1a</sup>	18,14 <sup>1ab</sup>	14,57 <sup>1a</sup>	0,77	17,14 <sup>1a</sup>	17,43 <sup>1ab</sup>	14,43 <sup>1a</sup>	0,76	17,43 <sup>1a</sup>	18,86 <sup>1ab</sup>	15,57 <sup>1a</sup>	0,72						

HF – 25% masnog tkiva; MF - 17,5% masnog tkiva; LF - 10% masnog tkiva; SEM – standardna greška

<sup>1-3</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istom danu sušenja) praćene različitim brojem značajno se razlikuju ( $P<0,01$ )

<sup>a-f</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istoj seriji) praćene različitim slovom značajno se razlikuju ( $P<0,01$ )

Kao što je to slučaj i kod drugih kobasicica malog promera, čajna kobasicica se često prodaje u komadu pa je zbog toga boja njene površine od veoma velikog značaja sa stanovišta potrošača. Vrednosti udela crvene boje (a\*) na površini čajne kobasicice postepeno su se smanjile tokom prvih 14 dana sušenja, nakon čega su se zadržale na istim vrednostima do kraja procesa proizvodnje. Dobijene vrednosti L\*, a\* i b\* mesa i masnog tkiva čajne kobasicice slične su onima izmerenim u eksperimentu sa Njeguškom kobasicicom i svinjskom fermentisanom kobasicicom (Simunovic i sar., 2021; Tomasevic i sar., 2019), ali različite od onih nađenih za uzorke kulena proizvedenog za potrebe pisanja ove disertacije. Razlog za ove rezultate leži u upotrebi crvene mlevene začinske paprike u proizvodnji domaćeg kulena koja značajno utiče na vrednosti parametara boje proizvoda. Sa druge strane, crvena mlevena začinska paprika se ne upotrebljava u proizvodnji Njeguške i čajne kobasicice.

### 5.3.6. Analiza teksture

Količina masnog tkiva imala je značajan ( $P < 0.01$ ) uticaj na parametre teksture čajne kobasicice. Tvrdoća kobasicice bila je značajno ( $P < 0.01$ ) niža u slučaju HF kobasicice u poređenju sa MF i LF kobasicama (Tabela 16). Razlike u parametrima tvrdoće između tri serije čajne kobasicice primećeni su već nakon punjenja u omotače. Što je viši sadržaj masti, vrednosti tvrdoće su niže i obratno. Ovi rezultati su u saglasnosti sa studijom Lorenzo i Franco (2012) u kojoj je ispitivan uticaj različitog nivoa masnog tkiva u formulaciji kobasicice. Smanjujući sadržaj masti, vrednosti gumoznosti i žvakljivosti značajno ( $P < 0.01$ ) su porasle. Sa druge strane, kohezivnost je bila značajno veća u LF kobasicama u poređenju sa vrednostima izmerenim za HF i MF kobasicice.

Međutim, između HF i MF kobasicica nisu utvrđene značajne ( $P < 0,01$ ) razlike u pogledu kohezivnosti. Ovi rezultati nisu u saglasnosti sa studijom Lorenzo i Franco (2012), koji prilikom ispitivanja kobasicica proizvedenih sa različitim sadržajem masnog tkiva nisu našli značajne ( $P < 0,001$ ) razlike u kohezivnosti kobasicica. Vreme sušenja značajno ( $P < 0,01$ ) je uticalo na povećanje tvrdoće, gumoznosti i žvakljivosti čajne kobasicice što je takođe prijavljeno od strane drugih autora za ostale tipove fermentisanih suvih kobasicica (Lorenzo i Franco, 2012; Lorenzo i sar., 2012; Simunovic i sar., 2021).

### 5.3.7. 3D lasersko skeniranje

Rezultati merenja zapremine pomoću 3D laserskog skeniranja ukazuju da se zapremina značajno smanjila ( $P < 0,01$ ) tokom procesa proizvodnje dugog 35 dana (Grafik 2). Relativna greška (%) izmerene 3D zapremine kretala se između 2,4% i 5,2% što je u saglasnosti sa rezultatima drugih autora (Goñi i sar., 2007; R. Zhang i sar., 2020). Sadržaj masti imao je značajan ( $P < 0,01$ ) efekat na smanjenje zapremine kobasicice tokom svih faza sušenja. Preciznije, najveće smanjenje zapremine zapaženo je kod kobasicica formulisanih sa 10% masnog tkiva (LF). Njihova zapremina smanjila se za 44,4% u poređenju sa početnom.

**Tabela 16.** Promena parametara tekture u ispitivanim uzorcima čajne kobasice sa različitim sadržajem masnog tkiva tokom procesa proizvodnje (srednja vrednost ± standardna devijacija).

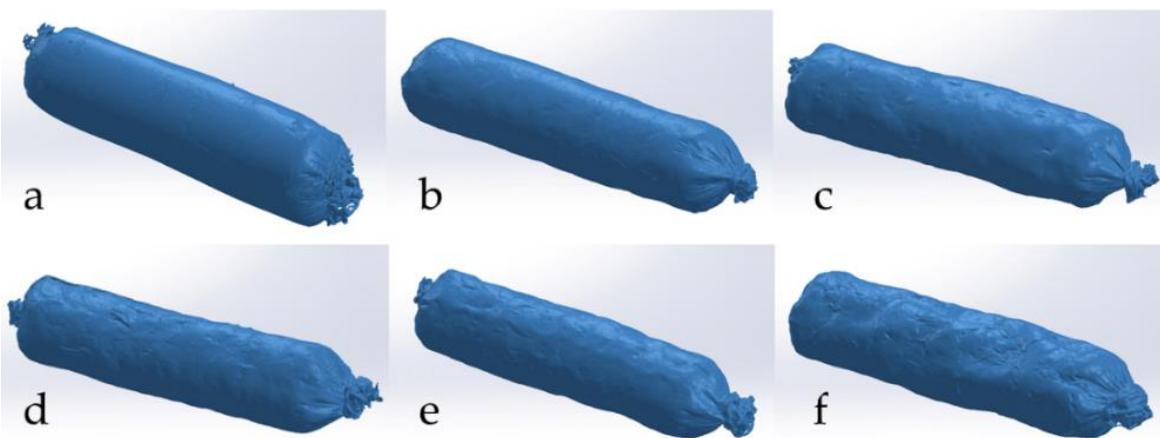
	Vreme sušenja (dani)															
	0			SEM			7			SEM			14			SEM
	HF	MF	LF	HF	MF	LF	HF	MF	LF	HF	MF	LF				
Tvrdoća (N)	5,00 <sup>1a</sup>	7,12 <sup>2a</sup>	8,97 <sup>3a</sup>	0,34	13,01 <sup>1b</sup>	23,38 <sup>2b</sup>	36,44 <sup>3b</sup>	1,91	24,12 <sup>1c</sup>	38,70 <sup>2c</sup>	50,57 <sup>3c</sup>	2,28				
Elastičnost	0,62 <sup>1a</sup>	0,63 <sup>1a</sup>	0,71 <sup>2a</sup>	0,01	0,64 <sup>1a</sup>	0,73 <sup>2b</sup>	0,81 <sup>3b</sup>	0,02	0,60 <sup>1a</sup>	0,70 <sup>12bc</sup>	0,69 <sup>2a</sup>	0,01				
Kohezivnost	0,42 <sup>1a</sup>	0,47 <sup>2ab</sup>	0,43 <sup>12a</sup>	0,01	0,39 <sup>1a</sup>	0,45 <sup>1a</sup>	0,53 <sup>2b</sup>	0,01	0,46 <sup>1ab</sup>	0,49 <sup>2ab</sup>	0,52 <sup>2bc</sup>	0,01				
Gumoznost (N)	2,06 <sup>1a</sup>	3,13 <sup>2a</sup>	3,77 <sup>3a</sup>	0,15	6,99 <sup>1b</sup>	10,41 <sup>2b</sup>	15,87 <sup>3b</sup>	0,74	12,48 <sup>1c</sup>	20,87 <sup>2c</sup>	30,19 <sup>3c</sup>	1,46				
Žvakljivost (N)	1,31 <sup>1a</sup>	2,03 <sup>2a</sup>	2,61 <sup>3a</sup>	0,11	4,72 <sup>1b</sup>	7,12 <sup>2b</sup>	12,87 <sup>3b</sup>	0,70	7,22 <sup>1b</sup>	12,68 <sup>2c</sup>	20,15 <sup>3c</sup>	1,08				
Vreme sušenja (dani)																
	21			SEM			28			SEM			35			SEM
	HF	MF	LF	HF	MF	LF	HF	MF	LF	HF	MF	LF				
	34,30 <sup>1d</sup>	48,12 <sup>2d</sup>	63,67 <sup>3d</sup>	0,34	45,69 <sup>1e</sup>	58,59 <sup>2e</sup>	74,26 <sup>3d</sup>	2,55	57,12 <sup>1f</sup>	70,15 <sup>2f</sup>	90,64 <sup>3e</sup>	3,09				
Tvrdoća (N)																
Elastičnost	0,67 <sup>1ab</sup>	0,65 <sup>1ac</sup>	0,56 <sup>2c</sup>	0,01	0,58 <sup>1ac</sup>	0,60 <sup>1a</sup>	0,55 <sup>1c</sup>	0,01	0,61 <sup>12a</sup>	0,63 <sup>1a</sup>	0,55 <sup>2c</sup>	0,01				
Kohezivnost	0,46 <sup>1ac</sup>	0,44 <sup>1a</sup>	0,48 <sup>1ac</sup>	0,01	0,40 <sup>1a</sup>	0,41 <sup>1ac</sup>	0,46 <sup>2a</sup>	0,01	0,37 <sup>1ad</sup>	0,37 <sup>1c</sup>	0,44 <sup>2a</sup>	0,01				
Gumoznost (N)	17,21 <sup>1d</sup>	26,55 <sup>2d</sup>	39,64 <sup>3d</sup>	0,15	25,42 <sup>1e</sup>	32,33 <sup>2e</sup>	50,00 <sup>3e</sup>	2,08	30,75 <sup>1f</sup>	40,52 <sup>2f</sup>	61,14 <sup>3f</sup>	2,59				
Žvakljivost (N)	12,91 <sup>1c</sup>	20,56 <sup>2d</sup>	31,71 <sup>3d</sup>	0,11	18,65 <sup>1d</sup>	28,78 <sup>2e</sup>	37,27 <sup>3e</sup>	1,54	25,59 <sup>1e</sup>	33,79 <sup>2f</sup>	44,33 <sup>3f</sup>	1,72				

HF – 25% masnog tkiva; MF - 17,5% masnog tkiva; LF - 10% masnog tkiva; SEM – standardna greška

<sup>1-3</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istom danu sušenja) praćene različitim brojem značajno se razlikuju ( $P<0,01$ )

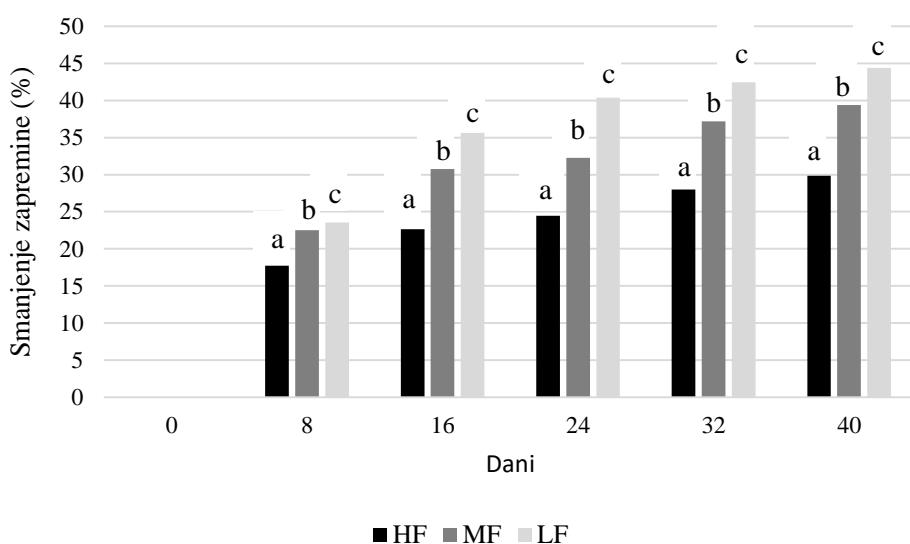
<sup>a-f</sup> Srednje vrednosti u istom redu (koje odgovaraju istoj seriji) praćene različitim slovom značajno se razlikuju ( $P<0,01$ )

Sa druge strane, za kobasice proizvedene sa dodatkom 17,5% i 25% masnog tkiva (MF i HF) uočene su značajno ( $P < 0,01$ ) niže vrednosti smanjenja zapremine smanjivši se 39% i 29% od njihove početne zapremine, redosledno. Na slici br. 17 prikazani su 3D modeli čajne kobasice proizvedene sa 17,5% masnog tkiva u šest vremenskih preseka tokom procesa sušenja.



**Slika 17.** Trodimenzionalni (3D) modeli čajne kobasice (MF) tokom procesa proizvodnje. (a) Dan proizvodnje. (b) 7. dan (c) 14. dan (d) 21. dan (e) 28. dan (f) 35. dan

Važno je naglasiti da su značajne razlike u smanjenju zapremine između kobasicica prijavljene već nakon prvih sedam dana sušenja (Grafik 15). Smanjenje zapremine bilo je u jakoj korelaciji ( $P < 0,01$ ) sa kalom sušenja ( $r=0,99$ ) što ukazuje na mogućnost primene 3D laserskog skeniranja u proceni kala sušenja u budućnosti. Poslednjih godina u literaturi objavljen je veliki broj studija na temu 3D štampanja i skeniranja u proizvodnji i analizi hrane (Goñi i sar., 2007; R. Zhang i sar., 2020; W. Zhang i sar., 2016). 3D lasersko skeniranje svoju primenu u budućnosti može naći u stvaranju 3D baza podataka prehrabnenih proizvoda koje bi se koristile na globalnom nivou. Ove baze podataka moguće bi poslužiti prilikom geometrijske karakterizacije i analize proizvoda koji su nepoznati određenoj laboratoriji. Međutim, ovo još uvek predstavlja nepoznato polje istraživačima i predstavlja prvi korak u razvoju analitičkih rešenja za 3D lasersko skeniranje hrane (Uyar i Erdogan, 2009).



**Grafik 15.** Promena zapremine merene 3D skenerom tri šarže čajne kobasice proizvedene sa različitim sadržajem masnog tkiva.

### 5.3.8. Oralno procesiranje

Kobasice sa najvišim ocenama dobijenim tokom deskriptivne senzorne analize (Tabela 18) odabране su i bile su podvrgnute analizi oralnog procesiranja. Odabrane kobasice iz serije HF bile su one upakovane nakon 35 dana sušenja, dok su u slučaju MF i LF serija odabrane kobasice upakovane nakon 28 dana (Tabela 17). Iako je broj zagrižaja bio različit u zavisnosti od serije, značajne ( $P < 0,01$ ) razlike nisu primećene, verovatno kao rezultat visoke standardne devijacije koja se kretala od 12,1% do 21,4%. Visoke vrednosti standardne divijacije prosečnog broja zagrižaja prijavljene su i od strane drugih autora za različite tipove prehrambenih proizvoda (Djekic i sar., 2020; Peyron i sar., 2002).

Značajne razlike nisu utvrđene u vremenu konzumacije jednog zalogaja između HF i MF kobasicica, dok je u slučaju LF kobasica vreme konzumacije bilo značajno ( $P < 0,01$ ) duže u poređenju sa HF i MF kobasicama. Razlog za duže vreme konzumacije verovatno se nalazi u većoj tvrdoći kobasica formulisanih sa 10% masnog tkiva (LF) što potvrđuju prethodno prikazani rezultati analize teksture koja je pokazala značajno više vrednosti tvrdoće LF kobasica (Tabela 17). Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima istraživanja Peyron i sar. (2002) koji su primetili da se povećanjem tvrdoće uzorka broj zagrižaja i vreme konzumacije povećava.

Analiza rezultata vrednosti brzine žvakanja [broj zagrižaja/s] za tri različita tipa čajne kobasice nije pokazala značajne razlike između kobasicica serija HF i MF, dok su kobasice iz LF serije imale značajno ( $P < 0,01$ ) niže vrednosti brzine žvakanja od HF i LF kobasicica. Razlog za niže vrednosti brzine žvakanja LF kobasica verovatno se nalazi u njihovoj većoj tvrdoći koja zahteva veću aktivnost maseteričnih mišića i posledično rezultira u sporijem žvakanju. Slični rezultati objavljeni su od strane Peyron i sar. (2002) koji su prijavili blago smanjenje u brzini žvakanja najvršćeg analiziranog uzorka u njihovom eksperimentu.

**Tabela 17.** Parametri oralnog procesiranja za tri različite serije čajne kobasice (srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija).

Broj zagrižaja	Vreme konzumacije jednog zalogaja [s]	Brzina žvakanja [broj zagrižaja/s]	Prosečna masa zalogaja [g]	Brzina konzumacije [g/s]	Stopa unosa masti [g masti/s]
HF-35	28,88 $\pm$ 3,5 <sup>a</sup>	17,21 $\pm$ 1,8 <sup>a</sup>	1,68 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	7,12 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>	0,42 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>
MF-28	29,67 $\pm$ 5,1 <sup>a</sup>	17,46 $\pm$ 2,7 <sup>a</sup>	1,69 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	7,04 $\pm$ 0,74 <sup>a</sup>	0,41 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup>
LF-28	32,75 $\pm$ 7,0 <sup>a</sup>	20,96 $\pm$ 4,5 <sup>b</sup>	1,56 $\pm$ 0,08 <sup>b</sup>	7,46 $\pm$ 0,69 <sup>a</sup>	0,37 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>

HF-35 – 25% masnog tkiva i sušene 35 dana; MF-28 - 17.5% masnog tkiva i sušene 28 dana; LF-28 - 10% masnog tkiva i sušene 28 dana

<sup>a-c</sup> Srednje vrednosti u istoj koloni praćene različitim slovom (<sup>a-c</sup>) se značajno razlikuju ( $P < 0,01$ )

S druge strane, vrednosti prosečnog zalogaja između serija bile su slične usled relativno visokih vrednosti standardne devijacije. Visoke vrednosti standardne devijacije za prosečnu masu takođe su prijavili Djekic i sar. (2020). U njihovoj studiji vrednosti standardne devijacije za različite tipove konditorskih proizvoda kretale su se od 43% do 60%. Naši rezultati pokazali su znatno niže vrednosti standardne devijacije za prosečnu masu zalogaja koja je iznosila maksimalno 10,5%.

Smanjenje sadržaja masti imalo je značajan uticaj na vrednosti brzine konzumacije [g/s] koje su bile značajno ( $P < 0,01$ ) niže u slučaju LF kobasicica u poređenju sa HF kobasicama. Međutim, brzina konzumacije MF kobasica bila je slična brzini nađenoj i za LF i HF kobasicice. Niže vrednosti brzine

konzumacije izračunate za LF kobasice mogu biti objašnjene dužim vremenom konzumacije. Sadržaj masti značajno ( $P < 0.01$ ) je uticao na stopu unosa masti [fat/s] koja je bila najveća u slučaju HF kobasicama, zatim za kobasicama iz serije MF, dok su kobasicama iz serije LF imale najniže vrednosti. Ovi rezultati ukazuju da se konzumacijom iste količine proizvoda, najmanja količina masti unosi konzumacijom kobasicama iz LF serije. U skladu sa tim, stopa unosa proteina u slučaju LF kobasicama je najveća.

### 5.3.9. Deskriptivna senzorna analiza

Deskriptivna senzorna analiza, u kojoj je učestvovalo dvanaest iskusnih ocenjivača, sprovedena je na kobasicama iz sve tri serije. Za potrebe ovog ispitivanja, deo kobasicama iz sve tri ispitivane serije vakuumiran je nakon 28. dana, dok je drugi deo vakuumiran nakon 35. dana sušenja. To znači da je ocenjivačima prilikom analize servirano ukupno šest različnih uzoraka (Tabela 18). Što se tiče kobasicama formulisanih sa 25% masnog tkiva (HF), značajno više ocene za boju, aromu, ukusnost, konzistenciju i opštu prihvatljivost dobile su kobasicama koje su bile podvragnute zrenju 35. dana u poređenju sa kobasicama iz iste serije koje su se sušile 28. dana. Ovi rezultati bili su očekivani jer su kobasicama iz serije HF služile kao kontrola. Sa druge strane, u slučaju kobasicama formulisanim sa samo 10% masnog tkiva rezultati pokazuju veoma niske ocene za kobasicama podvragnute sušenju tokom 35. dana. Preciznije, ocene za boju, aromu, ukusnost, konzistenciju i opštu prihvatljivost bile su najniže od svih ispitivanih kobasicama. Kobasicama iz ove grupe imale su vidno naboranu površinu što je u skladu sa njihovim visokim kalom sušenja. Razlog za veoma niske ocene opšte prihvatljivosti može se delom prepisati upravo naboranosti njihove površine.

Što se tiče LF kobasicama podvragnutih zrenju tokom 28. dana, ocene za sve ispitivane senzorne parametre bili su značajno ( $P < 0,01$ ) viši od ocena dobijenih za LF kobasicama podvragnute zrenju tokom 35. dana. Najviše ocene za sve ispitivane senzorne parametre dobile su kobasicama formulisanim sa 17,5% masnog tkiva, a podvragnute zrenju tokom 28. dana. Slično kao u slučaju HF kobasicama, MF kobasicama sušene tokom 35. dana poprimile su nespecifičan oblik zbog izražene naboranosti površine. Prema tome, može se izvesti zaključak da su ocene najsličnije ocenama kontrolne šarže (HF, sušene tokom 35. dana) dobile kobasicama iz MF serije koje su bile podvragnute zrenju tokom 28. dana.

**Tabela 18.** Rezultati deskriptivne senzorne analize tri serije čajne kobasicama sa različitim sadržajem masnog tkiva sušene 28 i 35 dana (srednja vrednost  $\pm$  standardna devijacija).

	35. dana sušenja			28. dana sušenja		
	HF (kontrola)	MF	LF	HF	MF	LF
Boja	4,50 $\pm$ 0,67 <sup>a</sup>	3,75 $\pm$ 0,79 <sup>ab</sup>	3,33 $\pm$ 0,49 <sup>b</sup>	3,83 $\pm$ 0,58 <sup>ab</sup>	4,42 $\pm$ 0,79 <sup>a</sup>	3,58 $\pm$ 0,51 <sup>ab</sup>
Aroma	4,58 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>	4,33 $\pm$ 0,89 <sup>ab</sup>	3,33 $\pm$ 0,52 <sup>b</sup>	4,08 $\pm$ 0,90 <sup>ab</sup>	4,50 $\pm$ 0,67 <sup>ac</sup>	3,67 $\pm$ 0,49 <sup>bc</sup>
Ukus	4,67 $\pm$ 0,49 <sup>a</sup>	3,92 $\pm$ 0,90 <sup>ab</sup>	3,42 $\pm$ 0,67 <sup>b</sup>	4,00 $\pm$ 0,43 <sup>ab</sup>	4,25 $\pm$ 0,96 <sup>ab</sup>	3,75 $\pm$ 0,45 <sup>ab</sup>
Konzistencija	3,96 $\pm$ 0,67 <sup>a</sup>	4,08 $\pm$ 0,79 <sup>a</sup>	3,83 $\pm$ 0,83 <sup>a</sup>	3,67 $\pm$ 0,49 <sup>a</sup>	4,17 $\pm$ 0,71 <sup>a</sup>	3,92 $\pm$ 0,79 <sup>a</sup>
Opšta prihvatljivost	4,67 $\pm$ 0,49 <sup>a</sup>	3,83 $\pm$ 0,71 <sup>b</sup>	3,08 $\pm$ 0,29 <sup>b</sup>	3,75 $\pm$ 0,62 <sup>b</sup>	4,75 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>	3,42 $\pm$ 0,51 <sup>b</sup>

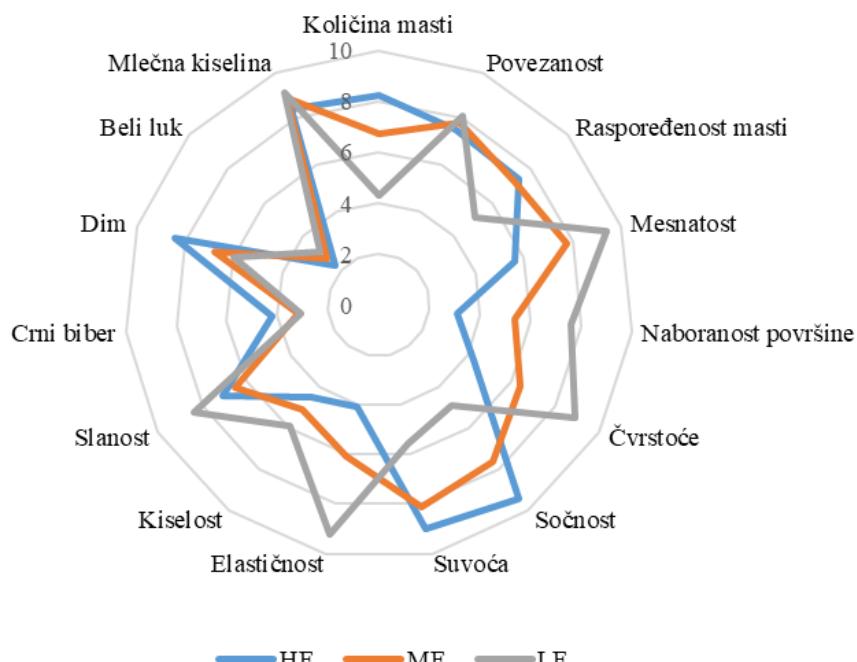
HF – 25% masnog tkiva; MF - 17.5% masnog tkiva; LF - 10% masnog tkiva

Vrednosti praćene različitim slovima (<sup>a-c</sup>) se statistički značajno razlikuju ( $P < 0,01$ ).

Rezultati ukazuju da ukoliko se želi smanjiti sadržaj masnog tkiva u čajnoj kobasici potrebno je smanjiti i vreme sušenja proizvoda za sedam dana. Kobasice sa smanjenim sadržajem masti uglavnom se doživljavaju kao proizvodi lošijeg kvaliteta sa tačke gledišta potrošača (Hamilton i sar., 2000). Razlog za to se verovatno nalazi u činjenici da mast utiče na ukus, sočnost, izgled i teksturu hrane. Pored uloge u pogledu senzornih svojstava, mast se takođe smatra vrlo važnom sa tehnološke tačke gledišta jer pozitivno utiče na otpuštanje vlage iz unutrašnjih slojeva kobasice (Muguerza i sar., 2002).

Čajna kobasica odlikuje se kiselim ukusom koji nastaje kao posledica intenzivne fermentacije od strane bakterija, u prvom redu BMK. Ovaj podatak je u skladu sa relativno niskim vrednostima pH izmerenim u svim analiziranim serijama čajne kobasice. Rezultati deskriptivne senzorne analize pokazali su značajne ( $P < 0,01$ ) razlike u pogledu količine masti, mesnatosti, naboranosti površine, tvrdoće, sočnosti, suvoće i elastičnosti između ispitivanih serija čajne kobasice (Grafik 16).

Sadržaj masti nije imao značajan ( $P < 0,01$ ) uticaj na povezanost mesa i masnog tkiva, kiselost, slanost, ukus crnog bibera, dima, belog luka i mlečne kiseljine. Kao što je bilo očekivano, najviše ocene za naboranost površine dobijene su za kobasice iz serije LF što može biti jedan od razloga za niže ocene ukupne prihvatljivosti. Naboranost površine je rezultat intenzivnog sušenja kobasice što potvrđuju rezultati merenja kala sušenja koje je bilo najizraženije u kobasicama formulisanim sa 10% masnog tkiva (LF). (Wirth, 1988) je pokazao da visok sadržaj masti usporava sušenje što utiče na smanjenje naboranosti u poređenju kobasicama proizvedenim sa nižim sadržajem masnog tkiva. Ova tvrdnja potvrđena je i u našem eksperimentu. Što je vreme sušenja duže, veće je kalo sušenja i posledično površina kobasice je više naborana.



**Grafik 16.** Senzorna karakterizacija tri serije čajne kobasice proizvedene sa različitim sadržajem masnog tkiva.

## 6. ZAKLJUČAK

Na osnovu ispitivanja parametara kvaliteta i bezbednosti tri šarže kulena proizvedene sa različitim sadržajem nitritne soli može se zaključiti:

- Rezultati ispitivanja pokazali su značajan ( $P < 0,01$ ) uticaj vremena sušenja na smanjenje sadržaja vlage,  $a_w$  i pH vrednosti tri šarže kulena proizvedene sa različitim sadržajem nitrita.
- Vreme sušenja uticalo je na povećanje sadržaja biogenih amina od kojih su u najvećim koncentracijama kvantifikovani kadaverin, putrescin i tiramin, dok je sadržaj triptamina, histamina i spermina ostao na nivou ispod 10 mg/kg.
- Smanjenje sadržaja nitrita nije pokazalo značajan ( $P < 0,01$ ) uticaj na sadržaj vlage, kalo sušenja,  $a_w$  vrednost, sadržaj nitrata kulena.
- Smanjenje sadržaja nitrita u kulenu uticalo je na značajno ( $P < 0,01$ ) povećanje sadržaja tiramina, kadaverina i putrescina.
- Potpuno uklanjanje NaNO<sub>2</sub> iz recepture kulena uticalo je na značajno ( $P < 0,01$ ) povećanje sadržaja malonaldehida u odnosu na kontrolnu šaržu kulena proizvedenu sa dodatkom 110 mg/kg NaNO<sub>2</sub>.
- Smanjenje sadržaja NaNO<sub>2</sub> za 50% (55 mg/kg NaNO<sub>2</sub>) nije imalo značajan ( $P < 0,01$ ) uticaj na povećanje sadržaja malonaldehida ukazujući da je ova koncentracija NaNO<sub>2</sub> od 55 mg/kg dovoljna za postizanje antioksidativnog efekta.
- Broj ukupnih bakterija i broj BMK nije se razlikovao među kobasicama tri proizvedene šarže sa izuzetkom poslednjeg dana skladištenja kada je u kulenu proizvedenom bez nitrita primećen značajno ( $P < 0,01$ ) niži broj BMK.

Na osnovu ispitivanja parametara kvaliteta i bezbednosti Njeguške kobasice tokom zrenja može se zaključiti:

- Njeguška kobasica je kobasica malog dijametra sa visokim sadržajem masti, dobro povezanim komadima mesa i masnog tkiva, niske  $a_w$  vrednosti i izražene arome na dim.
- Sadržaj vlage u Njeguškoj kobasici opada ispod 35% nakon 12 dana sušenja u primenjenim eksperimentalnim uslovima, zbog čega je moguće skratiti vreme sušenja u cilju ispunjenja zahteva Pravilnika o kvalitetu usitnjenoj mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa u pogledu sadržaja vlage.
- Vreme sušenja uticalo je na postepeno smanjenje sadržaja vlage,  $a_w$  i pH vrednosti Njeguške kobasice i povećanje kala sušenja.
- Sadržaj malonaldehida ostao je na relativno niskom nivou (0,27 mg MDA/kg) na kraju procesa proizvodnje.
- Dobijeni rezultati pokazali su značajan ( $P < 0,05$ ) uticaj vremena sušenja na povećanje sadržaja putrescina, spermina, spermidina, tiramina i triptamina dok su kadaverin i histamin prvi put kvantifikovani poslednjeg dana zrenja.
- Rezultati dobijeni pomoću analizatora teksture pokazali su da se tvrdoća, gumoznost i žvakljivost Njeguške kobasice postepeno povećavaju sa vremenom sušenja, dok do povećanja vrednosti elastičnosti i kohezivnosti dolazi u manjoj meri.
- U skladu sa rezultatima deskriptivne senzorne analize Njeguška kobasica može se opisati kao kobasica sa visokim udelom masnog tkiva, izraženom aromom na dim i izraženom sočnošću.
- Rezultati senzorne analize pokazali su srednje vrednosti za aromu belog luka, crnog bibera, suvoću, elastičnost i distribuciju masnog tkiva na preseku Njeguške kobasice.

- Usled nižeg intenziteta fermentacije prouzrokovanim tradicionalnim uslovima proizvodnje, pH vrednost Njeguške kobasice ostala je na relativno visokim vrednostima (5,54), a senzorni panel ocenio je niskom ocenom kiselost i aromu mlečne kiseline.

Na osnovu ispitivanja parametara kvaliteta i bezbednosti tri šarže čajne kobaice proizvedene sa različitim sadržajem čvrstog masnog tkiva može se zaključiti:

- Rezultati ispitivanja pokazali su značajan ( $P < 0,01$ ) uticaj vremena sušenja na smanjenje sadržaja vlage,  $a_w$  i pH vrednosti čajne kobasice proizvedene sa različitim sadržajem masnog tkiva.
- Tvrdoća, gumoznost i žvakljivost postepeno su se povećavali tokom sušenja u svim ispitivanim serijama čajne kobasice.
- Sadržaj vlage bio je najviši u kobasicama proizvedenim sa dodatkom 25% masnog tkiva, zatim u kobasicama formulisanim sa 17,5% masnog tkiva, dok je najmanji sadržaj utvrđen u kobasicama sa 10% masnog tkiva.
- Redukcija sadržaja masnog tkiva uticala je na značajno ( $P < 0,01$ ) niže  $a_w$  vrednosti kao posledica isparavanja molekula vode iz čajne kobasice.
- Rezultati ispitivanja pokazali su da se sa smanjenjem sadržaja masnog tkiva u formulaciji čajne kobasice sadržaj proteina u suvoj materiji značajno ( $P < 0,01$ ) povećava, a sadržaj masti značajno ( $P < 0,01$ ) smanjuje.
- Redukcija sadržaja masnog tkiva uticala je na značajno ( $P < 0,01$ ) povećanje kiselinskog broja i smanjenje peroksidnog broja.
- Sadržaj masnog tkiva nije imao značajan ( $P < 0,01$ ) uticaj na početni i krajnji broj ukupnih bakterija, kao i na broj BMK.
- Sadržaj sekundarnih proizvoda oksidacije lipida praćenih pomoću određivanja sadržaja malonaldehida nije se značajno ( $P < 0,01$ ) razlikovao u zavisnosti od količine masnog tkiva u čajnoj kobasici.
- Što je sadržaj masnog tkiva manji, vrednosti tvrdoće, gumoznosti i žvakljivosti u čajnoj kobasici su veće i obratno.
- Sadržaj masnog tkiva u formulaciji čajne kobasice može se redukovati na 17,5% bez negativnog uticaja na senzorne parametre kvaliteta.
- Deskriptivna senzorna analiza pokazala je da su kobasicice formulisane sa 17,5% masnog tkiva (MF), a upakovane nakon 28. dana sušenja, imale najpribližniju ocenu kontrolnoj šarži za opštu prihvatljivost.
- Rezultati deskriptivne senzorne analize pokazali su značajan ( $P < 0,01$ ) uticaj sadržaja masnog tkiva u pogledu mesnatosti, naboranosti površine, tvrdoće, sočnosti, suvoće, elastičnosti i količine masti, dok povezanost mesa i masnog tkiva, kiselost, slanost, aroma crnog bibera, dima, belog luka i mlečne kiseline nisu bili pogđeni smanjenjem masnog tkiva u formulaciji čajne kobasice.

Na osnovu rezultata ispitivanja kulena dobijenih pomoću savremenih metoda senzorne analize može se zaključiti:

- Svetloća ( $L^*$ ) komada mesa na preseku kulena i na površini kobasice postepeno se smanjila tokom procesa sušenja u sve tri ispitivane serije kulena.
- Rezultati 3D laserskog skeniranja pokazali su da smanjenje sadržaja nitrita nema značajnog ( $P < 0,01$ ) uticaja na smanjenje zapremine kulena tokom sušenja.

- Uticaj nitrita na boju kulena nije presudan
- Analiza oralnog procesiranja pokazala je značajno ( $P < 0,01$ ) niže vrednosti prosečnog broja zalogaja i vremena konzumacije jednog zalogaja u kobasicama proizvedenim bez dodatka nitrita (NF).
- Rezultati analize privremene dominacije senzacija pokazali su da smanjenje sadržaja nitrita nema uticaj na redosled opažanja senzacija i njihov intenzitet.

Na osnovu rezultata ispitivanja Njeguške kobasice dobijenih pomoću savremenih metoda senzorne analize može se zaključiti:

- Vrednosti svetloće ( $L^*$ ) posebno merene za delove mesa, delove masnog tkiva na preseku i površinu Njeguške kobasice značajno ( $P < 0,05$ ) su opale tokom procesa sušenja.
- Vreme sušenja uticalo je na porast udela crvene boje ( $a^*$ ) površine Njeguške kobasice, kao i delova mesa i masnog tkiva na preseku proizvoda.

Na osnovu rezultata ispitivanja čajne kobasice dobijenih pomoću savremenih metoda senzorne analize može se zaključiti:

- Rezultati 3D laserskog skeniranja ukazuju na značajan ( $P < 0,01$ ) uticaj vremena sušenja na smanjenje zapremine čajne kobasice.
- Vreme sušenja uticalo je na značajno ( $P < 0,01$ ) smanjenje vrednosti svetloće ( $L^*$ ) delova mesa na preseku čajne kobasice i površine kobasice.
- Smanjenje sadržaja masnog tkiva u čajnoj kobasici značajno ( $P < 0,01$ ) je uticalo na izraženije smanjenje zapremine merene tehnikom 3D laserskog skeneranja.
- Smanjenje količine čvrstog masnog tkiva u recepturi čajne kobasice nije imalo uticaja na parametre boje površine kobasice, komada mesa i komada masnog tkiva na preseku proizvoda.
- Smanjenje sadržaja masnog tkiva na 10% i smanjenje vremena sušenja za 7. dana uticalo je na značajno ( $P < 0,01$ ) povećanje vremena konzumacije jednog zalogaja i smanjenu brzinu konzumacije.
- Sa povećanjem sadržaja masnog tkiva u čajnoj kobasici dolazi do značajnog povećanja stope unosa masti (g masti/s).

## 7. LITERATURA

- Abdel-Hamied M., R., Akram A., A., Salha, G., Fatma, M. (2017). Characterization and optimization of lipase activity produced by *Pseudomonas monteilli* 2403-KY120354 isolated from ground beef. *African Journal of Biotechnology*, 16(2), 96-105.
- Adamczak, L., Chmiel, M., Florowski, T., Pietrzak, D., Witkowski, M., Barczak, T. (2015). A Potential Use of 3-D Scanning to Evaluate the Chemical Composition of Pork Meat. *Journal of Food Science*, 80(7), E1506-E1511. doi:<https://doi.org/10.1111/1750-3841.12913>
- Adamczak, L., Chmiel, M., Florowski, T., Pietrzak, D., Witkowski, M., Barczak, T. (2018). The use of 3D scanning to determine the weight of the chicken breast. *Computers and Electronics in Agriculture*, 155, 394-399. doi:<https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.10.039>
- Aguayo-Mendoza, M. G., Ketel, E. C., van der Linden, E., Forde, C. G., Piqueras-Fiszman, B., Stieger, M. (2019). Oral processing behavior of drinkable, spoonable and chewable foods is primarily determined by rheological and mechanical food properties. *Food Quality and Preference*, 71, 87-95. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.06.006>
- Alves, S. P., Alfaia, C. M., Škrbić, B. D., Živančev, J. R., Fernandes, M. J., Bessa, R. J. B., Fraqueza, M. J. (2017). Screening chemical hazards of dry fermented sausages from distinct origins: Biogenic amines, polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy elements. *Journal of Food Composition and Analysis*, 59, 124-131. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.02.020>
- Aquilanti, L., Garofalo, C., Osimani, A., Clementi, F. (2016). Ecology of lactic acid bacteria and coagulase negative cocci in fermented dry sausages manufactured in Italy and other Mediterranean countries: An overview. 23, 429-445.
- Baka, A. M., Papavergou, E. J., Pragalaki, T., Bloukas, J. G., Kotzekidou, P. (2011). Effect of selected autochthonous starter cultures on processing and quality characteristics of Greek fermented sausages. *LWT - Food Science and Technology*, 44(1), 54-61. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.019>
- Barker, L., Mendoza, D., Mercer, J. A. (2018). Exploring the Use of 3D Scanning to Determine Whole-Body Volume While Wearing a Triathlon Wetsuit. *Journal of Functional Morphology and Kinesiology*, 3(2), 24. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2411-5142/3/2/24>
- Berardo, A., De Maere, H., Stavropoulou, D. A., Rysman, T., Leroy, F., De Smet, S. (2016). Effect of sodium ascorbate and sodium nitrite on protein and lipid oxidation in dry fermented sausages. *Meat Science*, 121, 359-364. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.07.003>
- Bolumar, T., Toepfl, S., Heinz, V. (2015). Fat Reduction and Replacement in Dry-Cured Fermented Sausage by Using High Pressure Processing Meat as Fat Replacer and Olive Oil. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 65(3), 175-182. doi:[10.1515/pjfn-2015-0026](https://doi.org/10.1515/pjfn-2015-0026)
- Bozkurt, H., Erkmen, O. (2004). Effects of Temperature, Humidity and Additives on the Formation of Biogenic Amines in Sucuk during Ripening and Storage Periods. *Food Science and Technology International*, 10(1), 21-28. doi:[10.1177/1082013204041992](https://doi.org/10.1177/1082013204041992)
- Chen, J. (2009). Food oral processing—A review. *Food Hydrocolloids*, 23(1), 1-25. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.11.013>
- Chen, J., Hu, Y., Wen, R., Liu, Q., Chen, Q., Kong, B. (2019). Effect of NaCl substitutes on the physical, microbial and sensory characteristics of Harbin dry sausage. *Meat Science*, 156, 205-213. doi:[10.1016/j.meatsci.2019.05.035](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.05.035)
- Christieans, S., Picgirard, L., Parafita, E., Lebert, A., Gregori, T. (2018). Impact of reducing nitrate/nitrite levels on the behavior of *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in French dry fermented sausages. *Meat Science*, 137, 160-167. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.11.028>
- Cocconcelli, P. S., Fontana, C. (2010). Starter Cultures for Meat Fermentation. In: Handbook of Meat Processing. Editor. Toldra, F. Blackwell Publishing.

- Cullere, M., Novelli, E., Dalle Zotte, A. (2020). Fat Inclusion Level, NaCl Content and LAB Starter Cultures in the Manufacturing of Italian-Type Ostrich Salami: Weight Loss and Nutritional Traits. *Foods*, 9(4), 476. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/4/476>
- Demirok Soncu, E., Arslan, B., Ertürk, D., Küçükkaya, S., Özdemir, N., Soyer, A. (2018). Microbiological, physicochemical and sensory characteristics of Turkish fermented sausages (sucuk) coated with chitosan-essential oils. *LWT*, 97, 198-204. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.06.049>
- Di Monaco, R., Su, C., Masi, P., Cavella, S. (2014). Temporal Dominance of Sensations: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 38(2), 104-112. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.04.007>
- Djekic, I., Ilic, J., Guiné, R. P. F., Tomasevic, I. (2020). Can we understand food oral processing using Kano model? Case study with confectionery products. *Journal of Texture Studies*, 51(6), 861-869. doi:[10.1111/jtxs.12550](https://doi.org/10.1111/jtxs.12550)
- Djekic, I., Ilic, J., Lorenzo, J. M., Tomasevic, I. (2021). How do culinary methods affect quality and oral processing characteristics of pork ham? *Journal of Texture Studies*, 52(1), 36-44. doi:<https://doi.org/10.1111/jtxs.12557>
- Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., Lorenzo, J. M. (2019). A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products. *Antioxidants*, 8(10), 429. doi:[10.3390/antiox8100429](https://doi.org/10.3390/antiox8100429)
- Džinić, N., Ivic, M., Branislav, S., Jokanovic, M., Tomovic, V., Okanovic, D., Raljic, J. P. (2015). Some Quality Parameters of Dry Fermented Sausages (Čajna kobasica). *Procedia Food Science*, 5, 77-80. doi:<https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.09.019>
- Džinić, N., Ivić, M., Jokanović, M., Šojić, B., Škaljac, S., Tomovic, V. (2016). Chemical, Color, Texture and Sensory Properties of Čajna Kobasica, a Dry Fermented Sausage. *Quality of Life (Banja Luka) - APEIRON*, 13. doi:[10.7251/QOL1601005DZ](https://doi.org/10.7251/QOL1601005DZ)
- EFSA. (2011). EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal* 2011;9(10):2393. [93 pp.] doi:[10.2903/j.efsa.2011.2393](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2393). Available online: [www.efsa.europa.eu/efsajournal](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal) Retrieved from
- Eisinaite, V., Tamkutė, L., Vinauskienė, R., Leskauskaitė, D. (2020). Freeze-dried celery as an indirect source of nitrate in cold-smoked sausages: Effect on safety and color formation. *LWT*, 129, 109586. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109586>
- Evropska komisija (2015). „Baranjski kulen”, EU br.: HR-PGI-0005-01207-3.3.2014.
- Evropska komisija (2015). „Slavonski kulen”, EU br.: HR-PGI-0005-01216 – 20.3.2014.
- FAO, F. a. A. O. o. U. N. (2017). FAO-EBRD project: Upgrade of Meat Quality Standards in Montenegro and Exchange of Lessons Learned in the Western Balkans. Inventory of traditional products from Montenegro. Potential products for quality labelling as geographical indications and traditional specialties guarantees.
- Fernández, M., Linares, D. M., Rodríguez, A., Alvarez, M. A. (2007). Factors affecting tyramine production in Enterococcus durans IPLA 655. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73(6), 1400-1406. doi:[10.1007/s00253-006-0596-y](https://doi.org/10.1007/s00253-006-0596-y)
- Flores, M., Toldrá, F. (2021). Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products - Invited review. *Meat Science*, 171, 108272. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108272>
- Forouhi, N. G., Krauss, R. M., Taubes, G., Willett, W. (2018). Dietary fat and cardiometabolic health: evidence, controversies, and consensus for guidance. *BMJ (Clinical research ed.)*, 361, k2139-k2139. doi:[10.1136/bmj.k2139](https://doi.org/10.1136/bmj.k2139)
- Franco, D., Martins, A. J., López-Pedrouso, M., Purriños, L., Cerqueira, M. A., Vicente, A. A., Pastrana, L. M., Zapata, C., Lorenzo, J. M. (2019). Strategy towards Replacing Pork Backfat with a Linseed Oleogel in Frankfurter Sausages and Its Evaluation on Physicochemical,

- Nutritional, and Sensory Characteristics. *Foods*, 8(9), 366. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2304-8158/8/9/366>
- Fraqueza, M. J., Laranjo, M., Elias, M., Patarata, L. (2021). Microbiological hazards associated with salt and nitrite reduction in cured meat products: control strategies based on antimicrobial effect of natural ingredients and protective microbiota. *Current Opinion in Food Science*, 38, 32-39. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cofo.2020.10.027>
- Gassara, F., Kouassi, A. P., Brar, S. K., Belkacemi, K. (2016). Green Alternatives to Nitrates and Nitrites in Meat-based Products—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(13), 2133-2148. doi:[10.1080/10408398.2013.812610](https://doi.org/10.1080/10408398.2013.812610)
- Gómez, M., Lorenzo, J. M. (2013). Effect of fat level on physicochemical, volatile compounds and sensory characteristics of dry-ripened “chorizo” from Celta pig breed. *Meat Science*, 95(3), 658-666. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.06.005>
- Gómez, M., Fonseca, S., Cachaldora, A., Carballo, J., Franco, I. (2017). Effect of chestnuts intake by Celta pigs on lipolytic, oxidative and fatty acid profile changes during ripening and vacuum-packed storage of Galician “chorizo”. *Journal of Food Composition and Analysis*, 56, 73-83. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.11.017>
- Goñi, S., Purlis, E., Salvadori, V. (2007). Three-dimensional reconstruction of irregular foodstuffs. *Journal of Food Engineering*, 82, 536-547. doi:[10.1016/j.jfoodeng.2007.03.021](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.03.021)
- Götterup, J., Olsen, K., Knøchel, S., Tjener, K., Stahnke, L. H., Møller, J. K. (2008). Colour formation in fermented sausages by meat-associated staphylococci with different nitrite- and nitrate-reductase activities. *Meat Sci*, 78(4), 492-501. doi:[10.1016/j.meatsci.2007.07.023](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.023)
- Hamilton, J., Knox, B., Hill, D., Parr, H. (2000). Reduced fat products – Consumer perceptions and preferences. *British Food Journal*, 102(7), 494-506. doi:[10.1108/00070700010336454](https://doi.org/10.1108/00070700010336454)
- He, Y., Wang, X., Chen, J. (2022). Current Perspectives on Food Oral Processing. *Annu Rev Food Sci Technol*, 13, 167-192. doi:[10.1146/annurev-food-052720-103054](https://doi.org/10.1146/annurev-food-052720-103054)
- Herrero, A. M., Ordóñez, J. A., de Avila, R., Herranz, B., de la Hoz, L., Cambero, M. I. (2007). Breaking strength of dry fermented sausages and their correlation with texture profile analysis (TPA) and physico-chemical characteristics. *Meat Science*, 77(3), 331-338. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.022>
- Hertadi, R., Widhyastuti, H. (2015). Effect of Ca<sup>2+</sup> Ion to the Activity and Stability of Lipase Isolated from Chromohalobacter japonicus BK-AB18. *Procedia Chemistry*, 16, 306-313. doi:<https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.12.057>
- Hierro, E., de la Hoz, L., Ordóñez, J. A. (1997). Contribution of Microbial and Meat Endogenous Enzymes to the Lipolysis of Dry Fermented Sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 2989-2995. doi:[10.1021/jf970127g](https://doi.org/10.1021/jf970127g)
- Holck, A., Axelsson, L., McLeod, A., Rode, T. M., Heir, E. (2017). Health and Safety Considerations of Fermented Sausages. *Journal of Food Quality*, 2017, 9753894. doi:[10.1155/2017/9753894](https://doi.org/10.1155/2017/9753894)
- Hospital, X. F., Hierro, E., Fernández, M. (2012). Survival of *Listeria innocua* in dry fermented sausages and changes in the typical microbiota and volatile profile as affected by the concentration of nitrate and nitrite. *Int J Food Microbiol*, 153(3), 395-401. doi:[10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.032](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.032)
- Hospital, X. F., Hierro, E., Fernández, M. (2014). Effect of reducing nitrate and nitrite added to dry fermented sausages on the survival of *Salmonella Typhimurium*. *Food Research International*, 62, 410-415. doi:[10.1016/j.foodres.2014.03.055](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.055)
- Hospital, X., Hierro, E., Stringer, S., Fernández, M. (2016). A study on the toxigenesis by *Clostridium botulinum* in nitrate and nitrite-reduced dry fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 218, 66-70. doi:[10.1016/j.ijfoodmicro.2015.11.009](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.11.009)
- Hu, Y., Chen, Q., Wen, R., Wang, Y., Qin, L., Kong, B. (2019). Quality characteristics and flavor profile of Harbin dry sausages inoculated with lactic acid bacteria and *Staphylococcus xylosus*. *LWT*, 114, 108392. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108392>

- Iacumin, L., Osualdini, M., Bovolenta, S., Boscolo, D., Chiesa, L., Panseri, S., Comi, G. (2020). Microbial, chemico-physical and volatile aromatic compounds characterization of Pitina PGI, a peculiar sausage-like product of North East Italy. *Meat Science*, 163, 108081. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108081>
- IARC. (2018). *Red Meat and Processed Meat, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 114*.
- Ikonić, P., Jokanović, M., ućević, N., Peulić, T., Šarić, L., Tomičić, Z., Škaljac, S., Delić, J., Lakićević, B., Tomašević, I. (2022). Effect of Different Ripening Conditions on Amino Acids and Biogenic Amines Evolution in Sjenički sudžuk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 105009. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.105009>
- Incze, K. (2007). European Products. In: *Handbook of Fermented Meat and Poultry*. Editor. Toldra, F. Blackwell Publishing.
- Israel, G. D. (2003). Determining Sample Size. Extension Service Bulletin PE-1. Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida.
- Karwowska, M., Kononiuk, A., Wójciak, K. M. (2019). Impact of Sodium Nitrite Reduction on Lipid Oxidation and Antioxidant Properties of Cooked Meat Products. *Antioxidants (Basel)*, 9(1). doi:10.3390/antiox9010009
- Kelkar, S., Stella, S., Boushey, C., Okos, M. (2011). Developing novel 3D measurement techniques and prediction method for food density determination. *Procedia Food Science*, 1, 483-491. doi:<https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.074>
- Kovačić, D., Karolyi, D. (2014). „Slavonski kulen“, specifikacija proizvoda. Zagreb.
- Kuréubić, V., Stajić, S., Miletić, N., Stanišić, N. (2022). Healthier Meat Products Are Fashionable—Consumers Love Fashion. *Applied Sciences*, 12(19). doi:10.3390/app121910129
- Kurt, Ş., Zorba, Ö. (2009). The effects of ripening period, nitrite level and heat treatment on biogenic amine formation of “sucuk” – A Turkish dry fermented sausage. *Meat Science*, 82(2), 179-184. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.01.008>
- Lahoz, C., Alonso, R., Ordovás, J. M., López-Farré, A., De Oya, M., Mata, P. (1997). Effects of dietary fat saturation on eicosanoid production, platelet aggregation and blood pressure. *European Journal of Clinical Investigation*, 27(9), 780-787. doi:10.1046/j.1365-2362.1997.1860735.x
- Leite, A., Rodrigues, S., Pereira, E., Paulos, K., Oliveira, A. F., Lorenzo, J. M., Teixeira, A. (2015). Physicochemical properties, fatty acid profile and sensory characteristics of sheep and goat meat sausages manufactured with different pork fat levels. *Meat Science*, 105, 114-120. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.03.015>
- Leung, Y. L., Burr, S. A. (2014). Botulinum Toxin. In P. Wexler (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)* (pp. 540-542). Oxford: Academic Press.
- Lorentzen, G., Ageeva, T. N., Heia, K. (2021). Desalting of dried salt-cured cod (*Gadus morhua* L.) without water renewal - 3D imaging of volume change. *Food Control*, 121, 107613. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107613>
- Lorenzo, J. M., Franco, D. (2012). Fat effect on physico-chemical, microbial and textural changes through the manufactured of dry-cured foal sausage Lipolysis, proteolysis and sensory properties. *Meat Science*, 92(4), 704-714. doi:10.1016/j.meatsci.2012.06.026
- Lorenzo, J. M., Temperán, S., Bermúdez, R., Cobas, N., Purriños, L. (2012). Changes in physico-chemical, microbiological, textural and sensory attributes during ripening of dry-cured foal salchichón. *Meat Science*, 90(1), 194-198. doi:10.1016/j.meatsci.2011.06.025
- Lorido, L., Hort, J., Estévez, M., Ventanas, S. (2016). Reporting the sensory properties of dry-cured ham using a new language: Time intensity (TI) and temporal dominance of sensations (TDS). *Meat Science*, 121, 166-174. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.06.009>

- Lucke, F. K. (2000). Fermented Meats. In B. M. Lund (Ed.), *The microbiological safety and quality of food* (pp. 420–444). Gaithersburg: Aspen Publishers.
- Lücke, F.-K., Vogeley, I. (2012). Traditional ‘air-dried’ fermented sausages from Central Germany. *Food Microbiology*, 29(2), 242-246. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.06.019>
- Mahmoud, G. A. E., Kouthb, M., Morsy, F. M., Bagy, M. M. K. (2015). Characterization of lipase enzyme produced by hydrocarbons utilizing fungus Aspergillus terreus. *European Journal of Biological Research*, 5, 70-77.
- Micha, R., Mozaffarian, D. (2010). Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke, and diabetes: a fresh look at the evidence. *Lipids*, 45(10), 893-905. doi:[10.1007/s11745-010-3393-4](https://doi.org/10.1007/s11745-010-3393-4)
- Milovanovic, B. (2021). Ispitivanje mogućnosti primene kompjuterskog vizuelnog sistema za merenje boje hrane animalnog porekla. *Doktorska disertacija, Poljoprivredni Fakultet Univerziteta u Beogradu*.
- Milovanovic, B., Tomovic, V., Djekic, I., Miocinovic, J., Solowiej, B. G., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Tomasevic, I. (2021). Colour assessment of milk and milk products using computer vision system and colorimeter. *International Dairy Journal*, 120, 105084. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105084>
- Mollazade, K., Jörissen, S., Nüchter, A. (2021). Measuring internal quality traits in egg by 3D laser imaging. *Journal of Food Engineering*, 291, 110289. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110289>
- Mora-Gallego, H., Guàrdia, M. D., Serra, X., Gou, P., Arnau, J. (2016). Sensory characterisation and consumer acceptability of potassium chloride and sunflower oil addition in small-caliber non-acid fermented sausages with a reduced content of sodium chloride and fat. *Meat Science*, 112, 9-15. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.10.008>
- Mora-Gallego, H., Serra, X., Guàrdia, M. D., Arnau, J. (2014). Effect of reducing and replacing pork fat on the physicochemical, instrumental and sensory characteristics throughout storage time of small caliber non-acid fermented sausages with reduced sodium content. *Meat Sci*, 97(1), 62-68. doi:[10.1016/j.meatsci.2014.01.003](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.01.003)
- Muguerza, E., Fista, G., Ansorena, D., Astiasaran, I., Bloukas, J. G. (2002). Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 61(4), 397-404. doi:[10.1016/S0309-1740\(01\)00210-8](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(01)00210-8)
- Novaković, S., Tomašević, I. (2017). A comparison between Warner-Bratzler shear force measurement and texture profile analysis of meat and meat products: a review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 85, 012063. doi:[10.1088/1755-1315/85/1/012063](https://doi.org/10.1088/1755-1315/85/1/012063)
- Okinda, C., Sun, Y., Nyalala, I., Korohou, T., Opiyo, S., Wang, J., Shen, M. (2020). Egg volume estimation based on image processing and computer vision. *Journal of Food Engineering*, 283, 110041. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110041>
- Ozaki, M. M., Munekata, P. E. S., Jacinto-Valderrama, R. A., Efraim, P., Pateiro, M., Lorenzo, J. M., Pollonio, M. A. R. (2021). Beetroot and radish powders as natural nitrite source for fermented dry sausages. *Meat Science*, 171, 108275. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108275>
- Ozaki, M. M., Santos, M. d., Ribeiro, W. O., Azambuja Ferreira, N. C. d., Picone, C. S. F., Domínguez, R., Lorenzo, J. M., Pollonio, M. A. R. (2021). Radish powder and oregano essential oil as nitrite substitutes in fermented cooked sausages. *Food Research International*, 140, 109855. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109855>
- Palavecino Prpich, N., Castro, M., Cayré, M., Garro, O., Vignolo, G. (2015). Indigenous Starter Cultures to Improve Quality of Artisanal Dry Fermented Sausages from Chaco (Argentina). *International Journal of Food Science*, 2015, 931970. doi:[10.1155/2015/931970](https://doi.org/10.1155/2015/931970)

- Parunović, N., Petrović, M., Matekalo-Sverak, V., Radojković, D., Radović, Č. (2014). Fatty Acid Profiles, Chemical Content and Sensory Properties of Traditional Fermented Dry Kulen Sausages. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(5), 2061-2068. doi:<https://doi.org/10.1111/jfpp.12184>
- Pateiro, M., Bermúdez, R., Lorenzo, J. M., Franco, D. (2015). Effect of Addition of Natural Antioxidants on the Shelf-Life of “Chorizo”, a Spanish Dry-Cured Sausage. *Antioxidants*, 4(1). doi:10.3390/antiox4010042
- Pennisi, L., Verrocchi, E., Paludi, D., Vergara, A. (2020). Effects of vegetable powders as nitrite alternative in Italian dry fermented sausage. *Italian journal of food safety*, 9(2), 8422. doi:10.4081/ijfs.2020.8422
- Petrović, L., Džinić, N., Ikonić, P., Tasić, T., Tomović, V. (2011). Quality and safety standardization of traditional fermented sausages. *Tehnologija mesa*, 52(2).
- Petrović, L., Džinić, N., Tomović, V., Ikonić, P., Tasić, T. (2007). *Opis geografskog područja i tehnički elaborat o načinu proizvodnje i specifičnim karakteristikama proizvoda Petrovačka kobasica*: Zavod za intelektualnu svojinu.
- Peyron, M. A., Lassauzay, C., Woda, A. (2002). Effects of increased hardness on jaw movement and muscle activity during chewing of visco-elastic model foods. *Exp Brain Res*, 142(1), 41-51. doi:10.1007/s00221-001-0916-5
- Pintado, T., Cofrades, S. (2020). Quality Characteristics of Healthy Dry Fermented Sausages Formulated with a Mixture of Olive and Chia Oil Structured in Oleogel or Emulsion Gel as Animal Fat Replacer. *Foods*, 9(6). doi:10.3390/foods9060830
- Radetić, P. (1997). *Sirove kobasice*. Beograd: Ilijanum.
- Radman, M. (2005). Consumer consumption and perception of organic products in Croatia. *British Food Journal*, 107(4), 263-273. doi:10.1108/00070700510589530
- Revilla, I., Vivar-Quintana, A. M. (2004). Changes in quality and antioxidant properties of dry sausages produced by type and dose of paprika. *Czech Journal of Food Sciences*, 22, S183-S186. doi:<https://doi.org/10.17221/10655-CJFS>
- Roncalés, P. (2007). Additives. In: *Handbook of Fermented Meat and Poultry*. Editor. Toldra, F. Blackwell Publishing.
- Ruiz, J. (2007). Ingredients. In: *Handbook of Fermented Meat and Poultry*. Editor. Toldra, F. Blackwell Publishing.
- Sagratiní, G., Fernández-Franzón, M., De Berardinis, F., Font, G., Vittori, S., Mañes, J. (2012). Simultaneous determination of eight underivatised biogenic amines in fish by solid phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 132(1), 537-543. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.054>
- Sañudo-Barajas, J. A., Lipan, L., Cano-Lamadrid, M., de la Rocha, R. V., Noguera-Artiaga, L., Sánchez-Rodríguez, L., Carbonell-Barrachina, Á. A., Hernández, F. (2019). Chapter 14 - Texture. In E. M. Yahia (Ed.), *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables* (pp. 293-314): Woodhead Publishing.
- Schieber, A., Weber, F. (2016). 5 - Carotenoids. In R. Carle i R. M. Schweiggert (Eds.), *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages* (pp. 101-123): Woodhead Publishing.
- Sebranek, J. G., Bacus, J. N. (2007). Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Science*, 77(1), 136-147. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.025>
- Sheweita, S. A., El-Bendery, H. A., Mostafa, M. H. (2014). Novel Study on N-Nitrosamines as Risk Factors of Cardiovascular Diseases. *BioMed Research International*, 2014, 817019. doi:10.1155/2014/817019
- Simunovic, S., Djordjevic, V., Bogdanovic, S., Dimikic, I., Stankovic, S., Novakovic, S., Tomasevic, I. (2019). *Changes in chemical attributes during ripening of traditional fermented sausage, “Pirot ironed”*. Paper presented at the Safe Meat For Healthy Future, Kopaonik, Serbia.

- Simunovic, S., Đorđević, V., Barba, F. J., Lorenzo, J. M., Rašeta, M., Janković, S., Tomasevic, I. (2021). Characterisation of changes in physicochemical, textural and microbiological properties of Njeguška sausage during ripening. *Journal of Food Science and Technology*, 58(10), 3993-4001. doi:10.1007/s13197-020-04862-z
- Sindelar, J., Milkowski, A. (2011). Sodium Nitrite in Processed Meat and Poultry Meats: A Review of Curin and Examining the Risk and Benefit of Its Use. *White Paper, Series No, 3*, 1-14.
- Škaljac, S. (2014). *Uticaj različitih tehnoloških parametara na formiranje boje tradicionalne fermentisane kobasice (Petrovačka kobasica) tokom standardizacije bezbednosti i kvaliteta.* (Doctoral). Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
- Službeni Glasnik RS 50/19 (2019). Pravilnik o kvalitetu usitnjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa.
- Stahnke, L. H., Tjener, K. (2007). Influence of Processing Parameters on Cultures Performance. In: *Handbook of Fermented Meat and Poultry*. Editor. Toldra, F. Blackwell Publishing.
- Stajić, S. (2015). Fizička, hemijska, senzorna i funkcionalna svojstva fermentisanih kobasic sa dodatkom biljnih ulja. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
- Steinberger, R., Westheimer, F. H. (1951). Metal Ion-catalyzed Decarboxylation: A Model for an Enzyme System1. *Journal of the American Chemical Society*, 73(1), 429-435. doi:10.1021/ja01145a139
- Sucu, C., Turp, G. Y. (2018). The investigation of the use of beetroot powder in Turkish fermented beef sausage (sucuk) as nitrite alternative. *Meat Science*, 140, 158-166. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.03.012>
- Sun, Q., Sun, F., Zheng, D., Kong, B., Liu, Q. (2019). Complex starter culture combined with vacuum packaging reduces biogenic amine formation and delays the quality deterioration of dry sausage during storage. *Food Control*, 100, 58-66. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.01.008>
- Sun, Q., Zhao, X., Chen, H., Zhang, C., Kong, B. (2018). Impact of spice extracts on the formation of biogenic amines and the physicochemical, microbiological and sensory quality of dry sausage. *Food Control*, 92, 190-200. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.002>
- Szymański, P., Łaszkiewicz, B., Siekierko, U., Kołożyn-Krajewska, D. (2020). Effects of the Use of *< i>Staphylococcus carnosus</i>* in the Curing Process of Meat with a Reduced Amount of Sodium Nitrite on Colour, Residue Nitrite and Nitrate, Content of Nitrosyl Pigments, and Microbiological and the Sensory Quality of Cooked Meat Product. *Journal of Food Quality*, 2020, 6141728. doi:10.1155/2020/6141728
- Tang, R., Peng, J., Chen, L., Liu, D., Wang, W., Guo, X. (2021). Combination of Flos Sophorae and chili pepper as a nitrite alternative improves the antioxidant, microbial communities and quality traits in Chinese sausages. *Food Research International*, 141, 110131. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110131>
- Tapp, W. N., Yancey, J. W. S., Apple, J. K. (2011). How is the instrumental color of meat measured? *Meat Science*, 89(1), 1-5. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.11.021>
- Tarladgis, B. G., Pearson, A. M., Jun, L. R. D. (1964). Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for determination of oxidative rancidity in foods. II.—formation of the tba-malonaldehyde complex without acid-heat treatment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 15(9), 602-607. doi:<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740150904>
- Tasić, T., Ikonijć, P., Mandić, A., Jokanović, M., Tomović, V., Savatić, S., Petrović, L. (2012). Biogenic amines content in traditional dry fermented sausage Petrovská klobása as possible indicator of good manufacturing practice. *Food Control*, 23(1), 107-112. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.06.019>
- Tjener, K., Stahnke, L. H. (2007). Flavor. In: *Handbook of Fermented Meat and Poultry*. Editor. Toldra, F. Blackwell Publishing.

- Tomasevic, I., Simunovic, S., Đorđević, V., Đekić, I., Tomović, V. (2022). Traditional pork sausages in Serbia: Manufacturing process, chemical composition and shelf life. In Paulo E. S. Munekata, Mirian Pateiro, D. Franco, i J. M. Lorenzo (Eds.), *Pork* (pp. 171-195). Boca Raton, : CRC Press.
- Tomasevic, I., Tomovic, V., Milovanovic, B., Lorenzo, J., Đorđević, V., Karabasil, N., Djekic, I. (2019). Comparison of a computer vision system vs. traditional colorimeter for color evaluation of meat products with various physical properties. *Meat Science*, 148, 5-12. doi:10.1016/j.meatsci.2018.09.015
- Trbović, D., Marković, Z., Milojković-Opsenica, D., Petronijević, R., Spirić, D., Djinović-Stojanović, J., Spirić, A. (2013). Influence of diet on proximate composition and fatty acid profile in common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(1), 75-81. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.04.002>
- Tremonte, P., Sorrentino, E., Pannella, G., Tipaldi, L., Sturchio, M., Masucci, A., Maiuro, L., Coppola, R., Succi, M. (2017). Detection of different microenvironments and *Lactobacillus sakei* biotypes in Ventricina, a traditional fermented sausage from central Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 242, 132-140. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.009>
- Tubić, M., Savić, S., Čavoški, D., Veličković, D., Bojović, P., Perunović, M. (1992). Glavni elaborat o zaštiti oznake geografskog porekla. *Zavod za intelektualnu svojinu*.
- Uyar, R., Erdoğdu, F. (2009). Potential use of 3-dimensional scanners for food process modeling. *Journal of Food Engineering*, 93(3), 337-343. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.01.034>
- Vaskoska, R., Ha, M., Tran, H. T. T., Khoshelham, K., White, J. D., Warner, R. D. (2020). Evaluation of 3D Laser Scanning for Estimation of Heating-Induced Volume Shrinkage and Prediction of Cooking Loss of Pork Cuboids Compared to Manual Measurements. *Food and Bioprocess Technology*, 13(6), 938-947. doi:10.1007/s11947-020-02421-0
- Vuković, I., Vasilev, D., Saičić, S. (2014). Elaborat o zaštiti imena porekla Lemeškog kulena. *Zavod za intelektualnu svojinu*.
- Vuković, I., Vasilev, D., Saičić, S., Ivanković, S. (2012). Ispitivanje važnijih promena u toku zrenja tradicionalne fermentisane kobasice lemeški kulen. *Tehnologija mesa*, 53(2).
- Wakamatsu, J.-i., Kawazoe, H., Ohya, M., Hayakawa, T., Kumura, H. (2020). Improving the color of meat products without adding nitrite/nitrate using high zinc protoporphyrin IX-forming microorganisms. *Meat Science*, 161, 107989. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.107989>
- Wirth, F. (1988). Technologies for making fat-reduce meat products. What possibilities are there? *Fleisechwirtschaft*, 68 (9), 1153-1156.
- Wójciak, K. M., Stasiak, D. M., Kęska, P. (2019). The Influence of Different Levels of Sodium Nitrite on the Safety, Oxidative Stability, and Color of Minced Roasted Beef. *Sustainability*, 11(14). doi:10.3390/su11143795
- Wong, J. M., Elwood, D., Fredlund, D. G. (2019). Use of a three-dimensional scanner for shrinkage curve tests. *Canadian Geotechnical Journal*, 56(4), 526-535. doi:10.1139/cgj-2017-0700
- Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I., Hughes, S. I., Whittington, F. M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*, 78(4), 343-358. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.07.019>
- Yan, B., Zhao, Z., Zhang, N., Ruan, H., Yu, X., Zhao, J., Zhang, H., Chen, W., Fan, D. (2022). 3D food printing curing technology based on gellan gum. *Journal of Food Engineering*, 327, 111036. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111036>
- Yim, D.-G., Jang, K.-H., Chung, K.-Y. (2016). Effect of Fat Level and the Ripening Time on Quality Traits of Fermented Sausages. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 29(1), 119-125. doi:10.5713/ajas.15.0180

- Zhang, R., Li, F., Tang, J., Koral, T., Jiao, Y. (2020). Improved accuracy of radio frequency (RF) heating simulations using 3D scanning techniques for irregular-shape food. *LWT*, 121, 108951. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108951>
- Zhang, W., Wu, X., Qiu, Z., He, Y. (2016). A novel method for measuring the volume and surface area of egg. *Journal of Food Engineering*, 170, 160-169. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.08.025>
- Zhang, Y., Holman, B. W. B., Ponnampalam, E. N., Kerr, M. G., Bailes, K. L., Kilgannon, A. K., Collins, D., Hopkins, D. L. (2019). Understanding beef flavour and overall liking traits using two different methods for determination of thiobarbituric acid reactive substance (TBARS). *Meat Science*, 149, 114-119. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.11.018>
- Zhu, S., Vazquez Ramos, P., Heckert, O. R., Stieger, M., van der Goot, A. J., Schutyser, M. (2022). Creating protein-rich snack foods using binder jet 3D printing. *Journal of Food Engineering*, 332, 111124. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111124>
- Živković, D., Stajić, S. (2016). *Tehnologija mesa 1*. Beograd: Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu.

**PRILOZI****Prilog A** Izgled ocenjivačkog lista senzornog testa za Njegušku kobasicu

Senzorno ocenjivanje aromе i ukusa



<b>karakteristika</b>	U narednoj tabeli se nalaze 6 različitih karakteristika od kojih je svaku potrebno oceniti sa ocenom od 0 do 9. <u>Ocena 0</u> znači da posmatrana osobina nije uopšte izražena, dok <u>ocena 9</u> znači da je osobina veoma izražena. NAPOMENA: ispod tabele se nalaze definicije osobina prema ISO standardu
aroma crnog biberna	<p>A horizontal scale from 0 to 9 with tick marks at every integer. The numbers are: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.</p>
aroma belog luka	<p>A horizontal scale from 0 to 9 with tick marks at every integer. The numbers are: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.</p>
aroma dima	<p>A horizontal scale from 0 to 9 with tick marks at every integer. The numbers are: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.</p>
aroma mlečne kiseline	<p>A horizontal scale from 0 to 9 with tick marks at every integer. The numbers are: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.</p>
slanost	<p>A horizontal scale from 0 to 9 with tick marks at every integer. The numbers are: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.</p>
kiselost	<p>A horizontal scale from 0 to 9 with tick marks at every integer. The numbers are: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9.</p>
Ime i prezime ocenjivača:	

**Prilog B** Izgled ocenjivačkog lista senzornog testa za Njegušku kobasicu



Senzorno ocenjivanje teksture i izgleda



karakteristika	<p>U narednoj tabeli se nalaze 7 različitih karakteristika proizvoda od kojih je svaku potrebno oceniti sa ocenom od 0 do 9.  <b>Ocena 0</b> znači da posmatrana osobina nije uopšte izražena, dok <b>ocena 9</b> znači da je osobina veoma izražena.</p> <p>NAPOMENA: ispod tabele se nalaze definicije osobina prema ISO standardu</p>
sočnost	<p>A horizontal scale from 0 to 9 with tick marks at every integer. The numbers 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 are written below the scale.</p>
suvoća	<p>A horizontal scale from 0 to 9 with tick marks at every integer. The numbers 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 are written below the scale.</p>
tvrdoća/čvrstoća	<p>A horizontal scale from 0 to 9 with tick marks at every integer. The numbers 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 are written below the scale.</p>
elastičnost	<p>A horizontal scale from 0 to 9 with tick marks at every integer. The numbers 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 are written below the scale.</p>
povezanost mesa i masnog tkiva (konzistentnost)	<p>A horizontal scale from 0 to 9 with tick marks at every integer. The numbers 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 are written below the scale.</p>
raspoređenost masnog tkiva	<p>A horizontal scale from 0 to 9 with tick marks at every integer. The numbers 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 are written below the scale.</p>
količina masnog tkiva	<p>A horizontal scale from 0 to 9 with tick marks at every integer. The numbers 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 are written below the scale.</p>

## **BIOGRAFIJA KANDIDATA**

Rođen 24. novembra 1994. godine u Beogradu, gde je završio osnovnu školu „Svetozar Marković“. 2013. godine završava gimnaziju „Sveti Sava“ i iste godine se upisuje se na Poljoprivredni Fakultet Univerziteta u Beogradu na smer prehrambena tehnologija (Modul: Tehnologija animalnih proizvoda) koji završava 2017. godine sa prosečnom ocenom 8,67 i stiče zvanje diplomirani inženjer tehnologije. Nakon završetka studija počinje da radi u industriji mesa, gde radi kao tehnolog i prikuplja praktično znanje iz oblasti prehrambene tehnologije. Takođe, posećuje najpoznatije svetske sajmove i posećuje neke od najvećih mesnih industrija u Srbiji i Evropi. Od septembra 2018. zaposlen je na Institutu za higijenu i tehnologiju mesa. Iste godine, upisuje master akademske studije na Poljoprivrednom Fakultetu Univerziteta u Beogradu na smeru prehrambeni inženjering. Diplomirao je 2019. godine sa prosečnom ocenom 9,67 i ocenom 10 na master (završnom radu). U školskoj 2019/2020. godini upisao je doktorske studije na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu na smeru prehrambena tehnologija. U saradnji sa drugim autorima objavio je ukupno 7 radova u međunarodnim naučnim časopisima i 8 saopštenja na međunarodnim kongresima.

## **Izjava o autorstvu**

Ime i prezime autora: Stefan Simunović

Broj indeksa: TH190038

### **Izjavljujem**

da je doktorska disertacija pod naslovom:

Optimizacija procesa proizvodnje tradicionalnih fermentisanih kobasica primenom savremenih metoda analize

- 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 doktorskog rada

Ime i prezime autora: Stefan Simunović

Broj indeksa: TH190038

Studijski program: Prehrambena tehnologija

Naslov rada: Optimizacija procesa proizvodnje tradicionalnih fermentisanih kobasica primenom savremenih metoda analize

Mentor 1: dr Igor Tomašević, vanredni profesor

Mentor 2: dr Ilija Đekić, redovni profesor

Ijavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada 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:

Optimizacija procesa proizvodnje tradicionalnih fermentisanih kobasica primenom savremenih metoda analize

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilozima 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 sadržane 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)

**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 prerada. 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 prerada. 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.