

УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ  
ФАКУЛТЕТ:ТЕХНОЛОШКИ



UNIVERZITET U BANJA LUCI  
TEHNOLOŠKI FAKULTET  
BANJA LUKA

Prilaz: 29.03.2022.	STAVAK
15/11.651/22	ST.

## ИЗВЈЕШТАЈ

*о оцјени урађене докторске дисертације*

### І ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

На основу члана 61. и 141. Закона о високом образовању („Службени Гласник РС“, број 67/20), члана 54. Статута Универзитета у Бањој Луци, члана 19. Статута Научно-наставног вијећа Технолошког факултета Универзитета у Бањој Луци, Научно-наставно вијеће Технолошког факултета је на 10. сједници одржаној 15.03.2022. године, донијело Одлуку број: 15/3.522-23/22 од 15.03.2022. којом је именована комисија за преглед, оцјену и одбрану докторске дисертације кандидата мр Ане Велемир под називом „Утицај додатка биљног екстракта на својства природног омотача и одрживост Домаће ферментисане кобасице“ у саставу:

1. Др Александар Савић, ванредни професор Технолошког факултета Универзитета у Бањој Луци, ужа научна област Биохемијско инжењерство, предсједник;
2. Др Сњежана Мандић, ванредни професор Технолошког факултета Универзитета у Бањој Луци, ужа научна област Прехрамбене технологије намирница животињског поријекла, ментор;
3. Др Сузана Јахић, ванредни професор Биотехничког факултета Универзитет у Бихаћу, ужа научна област Храна и пиће, члан;  
За замјеника члана именована је др Даница Савановић, доцент Технолошког факултета Универзитета у Бањој Луци, ужа научна област Прехрамбене технологије намирница животињског поријекла.

Комисија је у предложеном року прегледала и оцијенила докторску дисертацију кандидата мр Ане Велемир под називом „Утицај додатка биљног екстракта на својства природног омотача и одрживост Домаће ферментисане кобасице“, те у складу са важећим универзитетским правилницима и прописима Научно-наставном вијећу Технолошког факултета Универзитета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци подноси извјештај.

- 1) Навести датум и орган који је именовao комисију;
- 2) Навести састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, научно-наставног звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање и назива универзитета/факултета/института на којем је члан комисије запослен.

### ІІ ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

Мр Ана (Милорад) Велемир рођена је 17.03.1975. године у Босанској Дубици, Босна и Херцеговина.  
Академске 2003/04 године уписала је магистарски студиј на Технолошком факултету Универзитета у Бањој Луци, на студијском програму Прехрамбене технологије и биотехнологије. Кандидат је магистарски рад под називом "Утицај



протеина сурутке и соје на производњу и квалитет Домаће ферментисане кобасице“, из уже научне области Прехрамбене технологије намирница животињског поријекла успјешно одбранила 09.09.2016. године и стекла звање Магистар техничких наука из области прехрамбених технологија (област Инжењерство и технологије).

Процедуру пријаве докторске дисертације кандидат је започео 2017. године, а Одлуком Сената Универзитета у Бањој Луци број 02/04-3.189-70/17 од 29.06.2017. одобрена је израда докторске дисертације под називом „Утицај додатка биљног екстракта на својства природног омотача и одрживост Домаће ферментисане кобасице“. За ментора при изради дисертације именована је др Сњежана Мандић, ванредни професор.

- 1) Име, име једног родитеља, презиме;
- 2) Датум рођења, општина, држава;
- 3) Назив универзитета и факултета и назив студијског програма академских студија II циклуса, односно последиједипломских магистарских студија и стечено стручно/научно звање;
- 4) Факултет, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране магистарског рада;
- 5) Научна област из које је стечено научно звање магистра наука/академско звање мастера;
- 6) Година уписа на докторске студије и назив студијског програма.

### III УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација кандидата мр Ане Велемир носи назив „Утицај додатка биљног екстракта на својства природног омотача и одрживост Домаће ферментисане кобасице“. Одлуком Сената Универзитета у Бањој Луци, број 02/04-3.189-70/17 од 29.06.2017. године, даје се сагласност на Извјештај о оцјени подобности теме, кандидата и ментора за израду наведене докторске дисертације.

Докторска дисертација кандидата мр Ане Велемир је написана латиничним писмом (фонт *Times New Roman*, величина слова 12, проред 1.5, формат А4). Дисертација је написана јасно и језички исправно, на 171 страници нумерисаног текста.

Садржај докторске дисертације представљен је слиједећим поглављима:

УВОД .....	1
1. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ .....	4
2. ЗАДАЦИ ИСТРАЖИВАЊА .....	29
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ .....	30
4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА .....	48
5. ЗАКЉУЧАК .....	126
6. ЛИТЕРАТУРА .....	131
7. ПРИЛОГ .....	161

На почетку докторске дисертације се налазе наслов и сажетак рада на српском и енглеском језику и садржај. У раду је приказано 17 слика, 31 график и 55 табела, а цитирано је 311 литературних навода.

На крају дисертације се налази биографија аутора, као и три изјаве према Правилнику о дигиталном репозиторијуму.

- 1) Наслов докторске дисертације;
- 2) Вријеме и орган који је прихватио тему докторске дисертације
- 3) Садржај докторске дисертације са страничењем;
- 4) Истаћи основне податке о докторској дисертацији: обим, број табела, слика, шема, графикана, број цитиране литературе и навести поглавља.

### IV УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

Ферментисане кобасице на нашим просторима имају дугу производну традицију. Квалитет ферментисаних кобасица, као и промјене које настају током процеса ферментације, сушења и зрења не зависе само од основних компонената надјева



кобасице, већ и од додатака који утичу на процес преласка надјева у ферментисан производ, као и од избора омотача. Учешће омотача у процесу производње почиње тренутком пуњења омотача надјевом, након чега учествује у волуметријским, структурним и хемијским промјенама које се дешавају унутар кобасице у току процеса производње, а завршава се конзумацијом. У мањој или већој мјери, сви омотачи служе као микробиолошка баријера која штити кобасицу у току производње, складиштења и дистрибуције (Savić & Savić, 2004).

Један од најчешћих узрока губитка квалитета и квара производа од меса је оксидација масти (Bystricky et al., 2004; Milanović-Stevanović et al., 2006). Под утицајем слободних радикала настају различити производи оксидације. Оксидација липида и протеина представља један од великих проблема у индустрији меса. Ове промјене могу изазвати стварање непријатних мириса и укуса, дисколорације, смањење нутритивних вриједности, а с тим и квалитета, што утиче на ограничену одрживост производа и доводи до акумулације токсичних једињења (Bošković, 2016). У производњи и преради меса као потенцијални природни додаци често се користе биљни екстракти, у циљу спречавања оксидације масти и протеина, и/или инхибиције раста и развоја бактерија, квасаца и плјесни, односно да би се спријечило пропадање и кварање производа (Botsaris et al., 2015).

Бактерије млијечне киселине и коагулаза-негативне кске представљају главне групе бактерија значајних за процесе ферментације и зрење кобасица (Ikonić, 2013). Поред бактерија значајних за процес зрења, у микрофлори надјева могу да се нађу и микроорганизми који кваре надјев, као и неки патогени микроорганизми (*Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 и *Staphylococcus aureus*). Познавање и контрола присутних микроорганизама има изузетан значај за микробиолошки квалитет, али и за сензорне особине као и безбједност готових производа (Mitrović, 2016; Suvajdžić, 2018).

Антиоксиданти су материје које спречавају реакције оксидације и тако неутралишу слободне радикале. Најчешће се користи за спречавање ужеглости, а тиме се утиче на одрживост намирница. Потреба замјене синтетичких антиоксиданата природним, као и захтјеви потрошача за употребом "природних" адитива у храни, иницирали су интензивна испитивања антиоксидативне активности сирових и пречишћених екстраката биљног материјала. Такође, због све веће раширености бактеријских патогена резистентних на антибиотике, све је више истраживања усмјерено на проналажење антимикробних компоненти биљног поријекла. У сврху побољшања заштитних, нутритивних и сензорних својстава производа користе се јестиви филмови и превлаке, који представљају могућност за унапријеђење квалитета хране и продужавање њене трајности, сигурности и функционалности. Заштитна својства се могу побољшати додатком антимикробних агенаса или антиоксиданаса. Коришћењем вањског слоја превлаке с високом концентрацијом антимикробних или антиоксидативних агенаса могуће је одржати изворни интегритет хране или, као алтернатива, могуће је користити мање количине адитива (у односу на укупну масу производа), као додаток храни (Galić, 2009).

Циљ овог рада био је испитивање утицаја додатка биљног екстракта на својства природног омотача и одрживост домаће ферментисане кобасице. У ту сврху постављене су помоћне хипотезе:

- Биљни екстракти имају различито антиоксидативно дјеловање,
- Биљни екстракти имају различито антимикробно дјеловање,
- Природни омотачи потопљени у биљне екстракте имају различито антиоксидативно дјеловање,
- Природни омотачи потопљени у биљне екстракте имају различито антимикробно дјеловање.



а на основу њих и главна хипотеза:

- Употреба омотача третираног биљним екстрактом утиче на очување квалитета и продужење трајности ферментисане Домаће кобасице током складиштења.

Истраживања у склопу ове дисертације подијељена су у три цјелине:

У првом дијелу проведена је припрема и тестирање биљних екстраката: трњине, црвене дивље трешње, ароније и дрењине. Након антиоксидативних и антимикробних анализа узорака биљних екстраката и обављене статистичке обраде резултата, одређене су концентрације за сваки биљни екстракт и тако припремљени раствори су коришћени за наставак експеримента.

Други дио истраживања односи се на тестирање природних омотача који су третирани припремљеним растворима претходно анализираних биљних екстраката. Након анализе антиоксидативних и антимикробних особина третираних омотача, и обављене статистичке обраде добијених резултата, изабрани су раствори екстраката који су показали најбоље антиоксидативне и антимикробне особине који су даље коришћени у припреми омотача за производњу ферментисаних кобасица.

У трећој цјелини извршена је анализа надјева, као и ферментисаних кобасица са претходно припремљеним омотачима третираним изабраним биљним екстрактима, након зрења и током складиштења.

Антимикробно и антиоксидативно дјеловање биљних екстраката углавном се приписује високом садржају фенолних једињења (Botsaris et al., 2015). Многе биљне врсте су занимљиве јер садрже хемијска једињења која могу утицати на продужење рока трајања, а побољшавају отпорност на оксидацију и успоравају раст микроорганизама и плјесни, чиме позитивно дјелују на особине производа (Abdel-Namied et al., 2009; Cottone, 2009; Alhijazeen, 2014). Резултати различитих студија показују да биљна биоактивна једињења могу дјеловати као добра замјена за синтетичке антиоксидансе и конзервансе (Sahari & Asgari, 2013; Mäkinen et al., 2020). Често се дешава да биљни екстракти имају јак, препознатљив окус, па је, поред антиоксидативне способности, веома битно испитати и сензорне карактеристике које се могу пренијети на сам производ (Cottone, 2009).

Природни антиоксиданси имају велики потенцијал примјене у месној индустрији. Биљни екстракти могу бити веома корисни у прехранбеној индустрији због антимикробног и антиоксидативног потенцијала, јер су препознати као сигурни (GRAS, Generally Recognized as Safe). Биљни екстракти требало би да су једноставни за примјену, ефикасни при ниским концентрацијама (до 0.01%) и стабилни током обраде и складиштења; не би требали негативно да утичу на сензорне особине производа (нпр. боја, мирис или арома), и, наравно, да буду економски исплативи (Nikmaram et al., 2018).

Уградња антиоксидативних биоактивних једињења у формулацији производа, на површини у облику филма или у материјалу за паковање може утицати на инхибирање раста непожељних микроорганизама, као и на смањење оксидације липида и протеина у храни. У ту сврху се проводе многа истраживања да би се пронашла нова природна једињења која би очувала сензорни и микробиолошки квалитет производа од меса. Један од могућих приступа у рјешавању питања очувања квалитета у току складиштења ферментисаних кобасица је природно, еколошки прихватљиво рјешење у виду употребе јестивог, биоразградивог активног филма на бази хитозана, уз додаток етарских уља биљака (Krkić et al., 2012a; Demirok Soncu et al., 2018). Додатком етарских уља оригана и кима, као и пчелињег воска, добија се активни амбалажни материјал оптималних својстава, који доприноси очувању боје пресјека кобасице, и ефикасно штити од непожељних оксидативних промена (Hromiš, 2015). У Бразилу је одобрена примјена низина,



метаболичког производа млијечно-киселинских бактерија, који се примјењује потапањем или прскањем површине хреновки након термичке обраде. Истраживања су показала да низин инкорпориран у природном цријеву прије пуњења, утиче на смањење броја нежељених бактерија млијечне киселине у вакуум пакованим кобасицама складиштеним на ниским температурама (Barros et al., 2010). Комбинација низина са кухињском сољу знатно инхибира раст *L. monocytogenes* у природним цријевима оваца (Hammou et al., 2010). У развоју антимикуробних јестивих филмова и превлаке, етерична уља од зачинског биља и зачина се широко користе (Campos et al., 2010). Додавањем биљних екстраката или неких природних био конзерванаса, могу се добити филмови који поседују антимикуробна и антиоксидативна својства (Krkić et al., 2012b; Adzaly et al., 2015; Raesi et al., 2016; Król et al., 2017).

Литература цитирана у докторској дисертацији, а наведена у овом дијелу извјештаја:

1. Abdel-Hamied, A.A., Nassar, A.G., & El-Badry, N. (2009). Investigations on antioxidant and antimicrobial activities of some natural extracts. *World J. Dairy Food Sci.*, 4(1): 1-7.
2. Adzaly, N.Z., Jackson, A., Villalobos-Carvajal, R., Kang, I., & Almenar, E. (2015). Development of a novel sausage casing. *Journal of Food Engineering*, 152, 24-31.
3. Alhijazeen, M. (2014). Effect of oregano essential oil and tannic acid on storage stability and quality of ground chicken meat. Graduate Theses and Dissertations. Paper 13966.
4. Barros, J. R., Kunigk, L., & Jurkiewicz, C.H. (2010). Incorporation of nisin in natural casing for the control of spoilage microorganisms in vacuum packaged sausage. *Brazilian Journal of Microbiology* 41, 1001-1008. doi:10.1590/S1517-838220100004000019
5. Bošković, M. (2016). Ispitivanje uticaja odabranih etarskih ulja na rast *Salmonella* spp. u mesu svinja pakovanog u vakuumu i modifikovanu atmosferu. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu. Fakultet veterinarske medicine
6. Botsaris, G., Orphanides, A., Yiannakou, E., Gekas, V., & Goulas, V. (2015). Antioxidant and Antimicrobial Effects of *Pistacia lentiscus* L. Extracts in Pork Sausages. *Food Technol. Biotechnol.*, 53 (4), 472–478.
7. Bystrický, P., Marcinčák, S., Dičáková, Z., & Šulej, P. (2004). Dynamics of antioxidant activity during manufacturing of meat products and antioxidant activity prediction. *Meso*, VI, 2, 31–43.
8. Campos, C.A., Gerschenson, L.N., & Flores, S.K. (2010). Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity. *Food Bioprocess Technol.* 1-27. doi: 10.1007/s11947-010-0434-1.
9. Cottone, E. (2009). Use of natural antioxidants in dairy and meat products: A review of sensory and instrumental analyses, Kansas State University.
10. 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-Food Science and Technology*. doi: 10.1016/j.lwt.2018.06.049.
11. Galić, K. (2009). Jestiva ambalaža u prehrambenoj industriji, *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*. 4, No. 1-2, 23-31.
12. Hammou, F.B., Skali, S.N., Idaomar, M., & Abrini, J. (2010). Combinations of nisin with salt (NaCl) to control *Listeria monocytogenes* on sheep natural sausage casings stored at 6°C. *African Journal of Biotechnology* Vol. 9 (8), 1190-1195.
13. Hromiš, N. (2015). Razvoj biorazgradivog aktivnog ambalažnog materijala na bazi



- hitozana: sinteza, optimizacija svojstava, karakterizacija i primena, Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet
14. Ikonić, P. (2013). Razvoj procesa sušenja i zrenja tradicionalne fermentisane kobasice (Petrovska klobasa) u kontrolisanim uslovima, Doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet
  15. Krkić, N., Šojić, B., Lazić, V., Petrović, Lj., Mandić, A., Sedej, I., & Tomovic, V. (2012a). Lipid oxidative changes in chitosan-oregano coated traditional dry fermented sausage Petrovska klobasa. *Meat science*. 93. 767-770. doi:10.1016/j.meatsci.2012.11.043.
  16. Krkić, N., Lazić, V., Savatić, S., Šojić, B., Petrović, Lj., & Šuput, D. (2012b). Application of chitosan coating with oregano essential oil on dry fermented sausage, *Journal of Food and Nutrition Research* 51 (1). 60-68.
  17. Król, Z., Kulig, D., Marycz, K., Zimoch-Korzycka, A., & Jarmoluk, A. (2017). The Effects of Using Sodium Alginate Hydrosols Treated with Direct Electric Current as Coatings for Sausages. *Polymers* 9, 11. 602. <https://doi.org/10.3390/polym9110602>.
  18. Mäkinen, S., Hellström, J., Mäki, M., Korpinen, R., & Mattila, P.H. (2020) Bilberry and Sea Buckthorn Leaves and Their Subcritical Water Extracts Prevent Lipid Oxidation in Meat Products, *Foods* 9, 265. 1-14. doi:10.3390/foods9030265.
  19. Милановић-Стевановић, М., Вуковић, И., Кочовски, Т., & Марковић, К. (2006). Утицај зачинског биља на промене масти током зрења и складиштења ферментисаних кобасица, *Технологија меса*, 47, 1-2. 38-44.
  20. Mitrović, R. (2016) Ispitivanje mogućnosti inaktivacije *Yersinia enterocolitica* u fermentisanim kobasicama. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu. Fakultet Veterinarske Medicine.
  21. Nikmaram, N., Budaraju, S., Barba, F.J., Lorenzo, J., Cox, R.B., Mallikarjunan, K., & Roohinejad, S. (2018). Application of plant extracts to improve the shelf-life, nutritional and health-related properties of ready-to-eat meat products. *Meat science* 145. 245-255. doi:10.1016/j.meatsci.2018.06.031.
  22. Raesi, M., Tabaraei, A., Hashemi, M., & Behnampour, N. (2016). Effect of sodium alginate coating incorporated with nisin, *Cinamonum zeylanicum*, and rosemary essential oils on microbial quality of chicken meat and fate of *Listeria monocytogenes* during refrigeration. *Int. J. Food Microbiol.* 238. 139–145.
  23. Sahari, M.A., & Asgari, S. (2013). Effects of Plants Bioactive Compounds on Foods Microbial Spoilage and Lipid Oxidation. *Food Science and Technology* 13. 52-61. 20134.
  24. Savić, Z., & Savić, I. (2004). Sausage Casings. Victus. Vienna.
  25. Suvajdžić, B. (2018). Ispitivanje mikroflore i parametara kvaliteta sremskog kulena proizvedenog u industrijskim i tradicionalnim uslovima. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu. Fakultet veterinarske medicine.

Истраживања проведена у овој дисертацији су допринијела да биљни екстракти са антимикробним и антиоксидативним дјеловањем задовоље потребе данашњег потрошача за здравствено исправном храном, без употребе хемијских конзерванаса. Додатком биљних екстраката добија се активни јестиви амбалажни материјал оптималних својстава који доприноси очувању стабилности квалитета кобасице, и ефикасно штити од непожељних оксидативних и микробиолошких промјена.

У изради јестивих филмова ради побољшања заштитних, нутритивних и сензорних својстава производа може се користити велики број додатака. Заштитна својства могу се побољшати додатком антимикробних агенаса или антиоксиданаса. Коришћењем вањског слоја превлаке са високом концентрацијом биљних екстраката са антимикробним или антиоксидативним дјеловањем могуће је одржати изворни интегритет хране или, као алтернатива, могуће је користити мање



количине додатака храни (у односу на укупну количину добијеног производа). Технике у производњи јестивих превлака морају се прилагодити самим карактеристикама материјала. Јестиви филмови и превлаке представљају могућност за побољшање квалитета хране, продужавање њеног рока трајања, сигурности и функционалности. Носиоци активних састојака могу се користити као појединачни амбалажни материјали и превлаке за храну.

- 1) Укратко истаћи разлог због којих су истраживања предузета и представити проблем, предмет, циљеве и хипотезе;
- 2) На основу прегледа литературе сажето приказати резултате претходних истраживања у вези проблема који је истраживан (водити рачуна да обухвата најновија и најзначајнија сазнања из те области код нас и у свијету);
- 3) Навести допринос тезе у рјешавању изучаваног предмета истраживања;
- 4) Навести очекиване научне и прагматичне доприносе дисертације.

## V МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

У поглављу МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА кандидат даје детаљан опис коришћених материјала и примијењених метода рада. За потребе овог рада, припремљени су етанолни и водени екстракти сљедећих биљних врста: трњина (*Prunus spinosa*), дрењина (*Cornus mas*), црвена диеља трешња (*Prunus avium*) и аронија (*Aronia melanocarpa*).

Природни омотачи, усолена говеђа цријева (Месница „Код Лазе“, Бања Лука), третирано раствором биљних екстраката коришћени су за испитивање антиоксидативних и антимикуробних особина. Исти природни омотачи су касније употребљени за потапање у растворе екстраката дрењине и ароније, који су се користили за производњу ферментисаних кобасица. Производња ферментисаних кобасица, рађена је према произвођачкој спецификацији у Месној Индустији „Њам-њам“, Бања Лука.

Антиоксидативна активност биљних екстраката испитана је: одређивањем садржаја укупних фенола, флавоноида, флавонола и антоцијана; мјерењем вриједности  $Ic50\%$  према DPPH и ABTS тестовима, као и мјерењем вриједности за FRAP тест. Испитивање антимикуробне активности припремљених екстраката обављено је методом разрјеђења у агару (NCCLS) за *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* и *Penicillium expansum*.

Антиоксидативне активности омотача третираног раствором биљних екстраката праћена је одређивањем садржаја укупних фенола и антиоксидативним тестовима (FRAP, DPPH, ABTS), а за тестирање антимикуробне активности омотача са екстрактима коришћена је модификована метода дифузије у агару (ISO 20645).

У циљу праћења промјена квалитета ферментисаних кобасица са третираном омотачима, коришћене су сљедеће методе:

- инструментално одређивање боје омотача и пресека кобасица,
- инструментално мјерење чврстоће,
- одређивање рН вриједности и активитета воде ( $a_w$ ),
- одређивање хемијских параметара (садржаја воде, садржаја укупне масти, садржаја укупних протеина, садржаја укупног пепела и садржаја натријум хлорида) по стандардним ISO методама,
- праћење липидних промјена на мастима (киселински број, пероксидни број садржај MDA),
- сензорна оцјена ферментисаних кобасица, по стандардним ISO методама.

Примијењене методе истраживања у овој докторској дисертацији су адекватне, довољно прецизне, тачне и савремене. Кандидат је поштовао план истраживања који је дат приликом пријаве докторске дисертације. Испитивани параметри дају



довољно елемената за поуздано истраживање, а статистичка обрада је адекватна.

- 1) Објаснити материјал који је обрађиван, критеријуме који су узети у обзир за избор материјала;
- 2) Дати кратак увид у примијењени метод истраживања при чему је важно оцијенити сљедеће:
  1. Да ли су примијењене методе истраживања адекватне, довољно тачне и савремене, имајући у виду достигнућа на том пољу у свјетским нивоима;
  2. Да ли је дошло до промјене у односу на план истраживања који је дат приликом пријаве докторске тезе, ако јесте зашто;
  3. Да ли испитивани параметри дају довољно елемената или је требало испитивати још неке, за поуздано истраживање;
  4. Да ли је статистичка обрада података адекватна.

## VI РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

Резултати и дискусија су приказани у поглављу 4, у три потпоглавља. У сваком од њих, табеларно и графички, су приказани резултати добијени током истраживања, који су продискутовани и поређени са резултатима других аутора.

У првом дијелу представљени су резултати добијени испитивањем антиоксидативног и антимикуробног дејства екстраката трњине, дрењине, ароније и црвене трешње. Установљено је да биљни екстракти показују различито антиоксидативно дјеловање. Етанолни екстракти су показали јачу антиоксидативну активност од водених екстраката, у свим испитиваним узорцима, што је резултат боље растворљивости полифенолних компоненти у разблаженом етанолу у односу на воду. Садржај укупних фенола (TPC) у испитиваним биљним екстрактима кретао се од 14.83 до 31.87 mg GAE/g с.е. у воденим, а 38.34-54.11 mg GAE/g с.е. у етанолним екстрактима. Редослијед биљних врста по опадајућем садржају укупних фенола у воденим екстрактима је слиједећи: црвена трешња > аронија > дрењина > трњина, а у етанолним: трњина > аронија > дрењина > црвена трешња. Садржај укупних флавоноида (TF) је мањи од садржаја нефлавоноида (TN) у воденим екстрактима код свих узорака, док је код етанолних екстраката садржај нефлавоноида већи само код дрењине.

У воденим екстрактима садржај флавонола кретао се од 1.1 до 7 mg QE/g с.е., а у етанолним екстрактима од 1.3 до 10.37 mg QE/g с.е. Највећи садржај нађен је у трњини, у оба екстракта, а најмањи у дрењини, у оба екстракта.

Највећи садржај антоцијана (>20 пута већи од осталих биљних врста) нађен је у аронији, у оба екстракта. У воденим екстрактима садржај мономерних антоцијана кретао се од 1.06 до 54.66 mg/g с.е., а за укупне антоцијане од 2.51 до 69.76 mg/g с.е. У етанолним екстрактима садржај мономерних антоцијана је био већи него у воденим екстрактима и кретао се од 3.62 до 177.88 mg/g с.е., а укупних антоцијана од 12.96 до 229.17 mg/g с.е.

Најбољу антиоксидативну активност, мјерену ABTS, DPPH и FRAP тестовима, показао је екстракт ароније (водени и етанолни) (изузетак је ABTS код етанолног екстракта). Водени екстракти су, у свим испитиваним узорцима, показали слабију антиоксидативну активност од етанолних екстраката.

Активне материје биолошког поријекла имају снажно антиоксидативно и антимикуробно дјеловање, као и ниску токсичност, и сматрају се ефикасним средством за активно паковање које може да се користити за чување и конзервацију хране.

Биљни екстракти показали су различито антимикуробно дејство. Вриједност минималних инхибиторних концентрација (MIC) према *S. aureus* кретале су се од 7.5 mg/mL (етанолни екстракт трњине растворен у етанолу, TEE), до 120 mg/mL (водени екстракт трешње растворен у води, TrVV). Најниже вриједности минималних бактерицидних концентрација (MBC) имали су раствори дрењине (етанолни екстракт растворен у етанолу и води (EE и EV), као и водени екстракт



растворен у води, VV) и ароније (етанолни екстракт растворен у води, EV).

Према *B. cereus* вриједност МИС кретале су од 7.5 mg/mL (етанолни екстракти трњине и дрењине растворени у етанолу, TEE и DEE, и етанолни екстракти ароније растворени у етанолу и води, AEE и AEV), до 120 mg/mL (водени екстракт трешње растворен у води, TrVV), а најнижу вриједност МВС од 7.5 mg/mL имали су раствори ароније (етанолни екстракт растворен у етанолу и води, EE и EV).

Вриједност МИС према *E. coli* кретала се од 15 mg/mL код екстраката трњине и дрењине (етанолни и водени екстракти растворени у етанолу, EE и VE), до >120 mg/mL (водени екстракти ароније растворени у води, AVV). Најниже вредности МВС имали су раствори трњине (водени екстракт растворен у етанолу, VE) и дрењине (водени и етанолни екстракти растворени у етанолу, EE и VE).

Према *S. enterica* вриједност МИС кретале су од 15 mg/mL (етанолни и водени екстракти трњине и дрењине растворени у етанолу, TEE, TVE, DEE и DVE), до >120 mg/mL (водени екстракти ароније растворени у води, AVV), а најнижу вриједност МВС од 15 mg/mL имао је раствор дрењине (етанолни екстракт растворен у етанолу, EE).

Антифунгалну активност према плијесни *P. expansum* показали су једино раствори етанолних екстраката растворених у етанолу (EE) у највишој испитиваној концентрацији од 30 mg/mL, а до повећања пречника раста плијесни дошло је тек након четвртог дана. Остали раствори нису показали антифунгалну активност.

У другом дијелу дати су резултати добијени испитивањем антиоксидативног и антимикуробног дјеловања омотача, третираних растворима екстраката трњине, дрењине, ароније и црвене трешње. Природни омотачи потопљени у биљне екстракте показали су различито антиоксидативно дјеловање. ТРС у испитиваним омотачима кретао се од 0.304 mg GAE/g (етанолни екстракти трешње растворени у води, TrEV) до 6.861 mg GAE/g (етанолни екстракти ароније растворени у етанолу, AEE). Највиша вриједност ТРС нађена је у омотачима третираним екстрактима ароније, веома сличним вриједностима за узорак са витамином С (C2), који се користи као контрола антиоксидативног средства.

Вриједности за DPPH кретале су од 0.028 mg GAE/g (водени екстракт трњине растворен у етанолу, TVE) до 1.259 mg GAE/g (етанолни екстракт ароније растворен у води, AEV). Највиша вриједност за DPPH нађена је у омотачима третираним растворима екстраката ароније.

Вриједности за ABTS кретале су од 0.054 mg GAE/g (водени екстракт трњине растворен у етанолу, TVE) до 0.796 mg GAE/g (етанолни екстракт ароније растворен у етанолу, AEE).

Вриједности за FRAP кретале су од 2.414  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$  (водени екстракт трњине растворен у етанолу, TVE), до 38.131  $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$  (етанолни екстракт ароније растворен у етанолу, AEE), а највеће вриједности су показали омотачи третирани са растворима ароније (веома високе вриједности).

Природни омотачи, потопљени у биљне екстракте, показали су различито антимикуробно дејство. Дејство према *S. aureus*, у виду контактне инхибиције (К.И.) показао је само етанолни екстракт дрењине растворен у води (DEV). Прорјеђен раст бактерије *B. cereus* показао је омотач третиран раствором етанолног екстракта дрењине раствореног у етанолу (DEE). Дејство према *S. enterica* у виду инхибиције (И) показали су омотачи третирани растворима дрењине (водени екстракт дрењине растворен у води и етанолу, DVV и DVE), а К.И. омотачи третирани растворима дрењине (етанолни екстракт дрењине растворен у води и етанолу, DEV и DEE) и трњине (водени екстракти трњине растворени у води и етанолу, TVV и TVE, и етанолни екстракт трњине растворен у етанолу, TEE). На *E. coli* К.И. су показали омотачи третирани воденим екстрактима трњине, дрењине и ароније, растворени у води (TVV, DVV и AVV). Добијени резултати указују да су коришћене



концентрације екстраката у које су били потопљени омотачи, иако су биле више од измјерених МИС вриједности за поједине екстракте, нису биле довољне да они покажу значајније антимикубно дејство, иако је установљено да испитивани омотачи имају позитиван утицај на антиоксидативна својства. Претпоставка је да је омотач задржао мању количину екстракта од потребне за дјеловање на изабране сојење. Одавде произилази да се антимикубне особине биљних екстракта могу приписати индивидуалним или синергијским ефектима различитих фактора, а не само садржају фенолних материја.

У трећем дијелу дат је преглед резултата физичких, физичко-хемијских, хемијских и сензорних промјена у току зрења и складиштења традиционалних ферментисаних кобасица, као и липолитичких промјена и микробиолошког статуса.

Употреба омотача третираног биљним екстрактом утицала је на очување квалитета и одрживости ферментисаних кобасица током складиштења. Примјена омотача третираног биљним екстрактима није утицала на промјену рН и  $a_w$  вриједности, а добијене вриједности се нису разликовале од вриједности код контролног узорка. На садржај воде, пепела, соли, протеина и укупних масти у кобасицама, третираног омотачи нису имали никакав утицај и нису се разликовали од контролног узорка.

Праћењем липолитичких промјена, резултати показују да је током складиштења дошло до повећања садржаја слободних масних киселина у испитиваним узорцима кобасице, осим за АЕЕ (етанолни екстракт ароније растворен у етанолу), код кога је у току последњег три мјесеца складиштења дошло до смањења вриједности за приближно 5%.

Резултати анализе вриједности пероксидног броја показали су да је током складиштења дошло до њеног пораста, осим код узорка третираног витамином С (С2). Узорак ДЕЕ (етанолни екстракт дрењине растворен у етанолу) је показао ниже вриједности од контролног узорка.

Праћењем напредовања оксидационог процеса МДА тестом, вриједности током складиштења су порасле у свим испитиваним узорцима и кретали су се од 0.74 до 1.90 mg/kg. У узорцима са третираног омотачима (АЕЕ и ДЕЕ) током складиштења су измјерени мањи садржаји МДА, у односу на контролни узорак, за приближно 12%.

Резултати испитивања текстуре показују да је код узорка ДЕЕ дошло до повећања тврдоће током складиштења. Узорак АЕЕ се током складиштења понашао слично контролном узорку, уз незнатно већу тврдоћу.

Посматрајући боју површине кобасице, долази се до закључка да је употреба екстракта ароније имала утицај на параметар боје. Током складиштења дошло је до пораста свјетлоће ( $L^*$ ) и удјела црвене боје ( $a^*$ ), а лагани пораст је примијењен и код удјела жуте боје ( $b^*$ ).

Код параметара  $L^*$  и  $a^*$  на пресеку кобасица није било већих промјена, сличан тренд је присутан код свих узорака. Удио жуте боје ( $b^*$ ) на пресеку није се мијењао само код узорка АЕЕ.

Сензорним испитивањем узорака кобасица, након зрења и током три мјесеца складиштења, установљено је да није било разлике између испитиваних узорака. Након шестог мјесеца складиштења у узорцима АЕЕ и ДЕЕ дошло је до појаве киселог укуса различитог интензитета, али оцјене за укупну прихватљивост су и даље биле веома високе.

Резултати „different from control“ - DFC теста показали су да је узорак АЕЕ визуелно био прихватљивији и имао љепшу боју површине, што је потврђено и резултатима испитивања боје омотача.

Резултати ТРС добијени анализом омотача ферментисаних кобасица показали су да је узорак ДЕЕ током цијелог периода складиштења имао знатно виши садржај ТРС од контролног узорка (18-50%). Резултати мјерења антиоксидативних активности



примијењеним тестовима (ABTS, DPPH, FRAP), такође су показали да су вриједности мјерних параметара биле више код узорака AEE и DEE, у односу на контролни узорак.

Испитивањем укупног броја бактерија дошло се до закључка да су током цијелог периода складиштења узорци AEE и DEE имали мањи укупан број бактерија од контролног узорака. У погледу испитивања присуства других тестираних микроорганизама (ентеробактерија, коагулаза (+) стафилокока, сулфиторедукујућих кластридија, квасаца и плјесни), нису установљена одступања узорака AEE и DEE у односу на контролни узорак, а сви испитивани узорци су били микробиолошки исправни.

На основу свих резултата истраживања, генерално се може закључити да је употреба омотача третираних екстраката позитивно утицала на смањење киселинске вриједности, пероксидног броја и садржаја MDA, као и на смањење укупног броја бактерија у току складиштења у односу на контролни узорак, а није негативно утицала на сензорне особине испитиваних ферментисаних кобасица. Одабрани омотачи показали су антиоксидативну активност и позитивно дјеловање у спречавању оксидативних промјена у мастима, као и антимикуробну активност која је утицала на смањење укупног броја бактерија у кобасицама и продужење одрживости и квалитета Домаће ферментисане кобасице.

Сагледавши све резултате истраживања може се констатовати да је кандидат својим експерименталним радом дошао до поузданих података, које је обрадио научним методама, те на основу њих у потпуности потврдио задане хипотезе.

Ово истраживање може бити основа за проширење истраживања у погледу одабира одговарајућих биљних врста као и употреби различитих и адекватних концентрација биљних екстраката у третирању омотача, у циљу добијања активне амбалаже и што квалитетнијих производа.

- 1) Укратко навести резултате до којих је кандидат дошао;
- 2) Оцијенити да ли су добијени резултати јасно приказани, правилно, логично и јасно тумачени, упоређујући са резултатима других аутора и да ли је кандидат при томе испољавао довољно критичности;
- 3) Посебно је важно истаћи до којих нових сазнања се дошло у истраживању, који је њихов теоријски и практични допринос, као и који нови истраживачки задаци се на основу њих могу утврдити или назирати.

## VII ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

Докторска дисертација кандидата мр Ане Велемир под називом: „Утицај додатка биљног екстракта на својства природног омотача и одрживост Домаће ферментисане кобасице“ садржи све неопходне елементе које захтијева један научно-истраживачки рад. Дисертација је урађена у складу са савременим принципима и методологијим научно-истраживачког рада, те у складу са постављеном хипотезом коју је кандидат дао током пријаве дисертације. Сви елементи у дисертацији су изложени на јасан и конкретан начин, са научним утемељењем. Комисија сматра да дисертација мр Ане Велемир представља самосталан и оригиналан научни рад. Комисија констатује да је кандидат овладао методом научног рада, а проведена истраживања у дисертацији дају допринос науци и примјењива су у пракси.

Примјеном биљних екстраката за третирање природних омотача у производњи ферментисаних кобасица може да се очува или побољша њихов квалитет, али и да се продужи трајност током складиштења. Амбалажа која садржи природне конзервансе и антиоксидансе несумњиво има велики потенцијал. Развој антиоксидативних активних система паковања је нова алтернативна технологија



паковања заснована на уграђивању антиоксидативних агенаса у паковање, као начин побољшања стабилности прехранбених производа осјетљивих на оксидацију.

На основу укупне оцјене докторске дисертације и свега изложеног у овом Извјештају, Комисија једногласно даје **позитивну оцјену** урађеној докторској дисертацији кандидата мр Ане Велемир под називом „Утицај додатка биљног екстракта на својства природног омотача и одрживост Домаће ферментисане кобасице“ и предлаже Научно-наставном вијећу Технолошког факултета и Сенату Универзитета у Бањој Луци да прихвати **позитивну оцјену** докторске дисертације кандидата **мр Ане Велемир** и одобри јавну одбрану.


- 1) Навести најзначајније чињенице што тези даје научну вриједност, ако исте постоје дати позитивну вриједност самој тези;
- 2) На основу укупне оцјене дисертације комисија предлаже:
  - да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана,
  - да се докторска дисертација враћа кандидату на дораду (да се допуни или измијени) или
  - да се докторска дисертација одбија.

Датум: 25.03.2022.

#### ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ



1. Др Александар Савић, ванредни професор Технолошког факултета Универзитета у Бањој Луци, ужа научна област Биохемијске инжењерство, предсједник;



2. Др Сњежана Мандић, ванредни професор Технолошког факултета Универзитета у Бањој Луци, ужа научна област Прехранбене технологије намирница животињског поријекла, ментор;



3. Др Сузана Јахић, ванредни професор Биотехничког факултета Универзитета у Бихаћу, ужа научна област Храна и пиће, члан;

ИЗДВОЈЕНО МИШЉЕЊЕ: Члан комисије који не жели да потпише извјештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извјештај образложење, односно разлог због којих не жели да потпише извјештај.