

**NASTAVNO - NAUČNOM VIJEĆU
TEHNOLOŠKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U ISTOČNOM SARAJEVU**

**PREDMET: Izvještaj Komisije o ocjeni urađenog doktorskog rada
 mr Danice Savanović, dipl. inž. tehnologije**

Odlukom Nastavno-naučnog vijeća Tehnološkog fakulteta Zvornik Univerziteta u Istočnom Sarajevu broj: 2384/2016.MG/SV od 23.12.2016. godine imenovani smo u Komisiju za ocjenu i odbranu urađenog doktorskog rada mr Danice Savanović, dipl. inž. tehnologije, pod nazivom “**Uticaj uslova smrzavanja na promjene i ponašanje proteina u prehrambenim proizvodima**”.

Komisija u sastavu:

1. **Dr Vladimir Tomović, vanr. prof.,** Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, **uža naučna oblast: Prehrambene tehnologije (Tehnologija mesa),** predsjednik
2. **Dr Radoslav Grujić, red. prof.,** Tehnološkog fakulteta u Zvorniku, Univerziteta u Istočnom Sarajevu, **uža naučna oblast: Prehrambene tehnologije,** mentor
3. **Dr Aleksandra Torbica, vanr. prof.** Tehnološkog fakulteta u Zvorniku, Univerziteta u Istočnom Sarajevu, **uža naučna oblast: Prehrambene tehnologije** i naučni savjetnik Načnog instituta za prehrambene tehnologije u Novom Sadu, član
4. **Dr Midhat Jašić, red. prof.,** Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Tuzli, **uža naučna oblast: Prehrambene tehnologije (Nutricionizam),** član
5. **Dr Dragan Vujadinović, docent,** Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Istočnom Sarajevu, **uža naučna oblast: Prehrambene tehnologije,** član

pregledala je dostavljeni doktorski rad i Nastavno-naučnom vijeću Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Istočnom Sarajevu podnosi sljedeći

IZVJEŠTAJ

1. Opšti podaci o doktorskom radu

Doktorski rad mr Danice Savanović, dipl. inž. tehnologije je napisan na 326 stranica, tekst formata A4, sa proredom 1,15 i fontom Times New Roman 12 cp, ilustrovanog sa 155 tabela, 91 dijagram i 13 slika. U doktorskom radu je korišteno 265 literaturnih navoda. Na početku je dat kratak prikaz rada na srpskom i engleskom jeziku. Doktorski rad je pregledno napisan i izložen kroz sljedeća poglavlja: Uvod, Pregled literature, Zadaci rada, Materijal i metode rada, Rezultati i diskusija, Zaključci, Literatura i dio rezultata istraživanja datih u Prilogu.

2. Prikaz i analiza dokorskog rada

Uvod. U uvodnom dijelu disertacije kandidat je predočio predmet istraživanja i cilj rada uz obrazloženje značaja postupaka smrzavanja prehrambenih proizvoda. Ovim poglavljem kandidat je u najkraćim crtama dao osnovne informacije vezane za smrzavanje prehrambenih proizvoda sa objašnjenjima vezanim za promjene do kojih dolazi tokom smrzavanja, skladištenja u smrznutom stanju i odmrzavanja smrznutih proizvoda. Analiziran je uticaj različitih brzina smrzavanja i temperatura skladištenja proizvoda. Poseban akcenat je dat na promjene fizičko-hemijskih i senzornih svojstava prehrambenih proizvoda. Tokom ovih postupaka u prehrambenim proizvodima dolazi do promjene stanja i strukture proteina, što se odražava na kvalitet, senzorna svojstva i upotrebljivost proizvoda. Uslovi smrzavanja, skladištenja i odmrzavanja mogu da utiču na intenzitet navedenih promjena proteina. Shodno predočenoj problematici navedenoj u uvodnom dijelu kandidat je jasno predočio ciljeve svog istraživanja. Detalje postavki u uvodnom dijelu kandidat je koncizno i metodološki predočio i razradio u pregledu literature.

Cilj istraživanja. U izradi ove doktorske disertacije cilj istraživanja je bio:

- da se ispituju mogućnosti očuvanja i povećanja stabilnosti proteina tokom smrzavanja prehrambenih proizvoda biljnog i životinjskog porijekla,
- da se ispita uticaj različitih brzina smrzavanja proizvoda na promjenu hemijskog stanja proteina,
- da se ispita uticaj skladištenja smrznutih proizvoda na proteine u prehrambenim proizvodima i
- da se ispita uticaj različitih uslova odmrzavanja na promjene koje se odvijaju na proteinima u prehrambenim proizvodima.

Radne hipoteze. Vodeći se postavljenim ciljevima istraživanja kandidat je sistematično postavio radne hipoteze kojima se vodio u izradi ove doktorske disertacije.

a) *Glavna hipoteza*

H₀: Uslovi smrzavanja prehrambenih proizvoda utiču na strukturu, kvalitet i senzorna svojstva proizvoda.

b) *Pomoćne hipoteze*

H₁: Hemijski sastav utiče na proces kristalizacije vode u proizvodima;

H₂: Način vezivanja vode u prehrambenim proizvodima utiče na proces kristalizacije vode u proizvodima;

H₃: Brzina smrzavanja prehrambenih proizvoda utiče na stanje proteina u proizvodima;

H₄: Brzina odmrzavanja prehrambenih proizvoda utiče na stanje proteina u proizvodima;

H₅: Dužina skladištenja prehrambenih proizvoda utiče na stanje proteina u proizvodima;

H₆: Brzina smrzavanja prehrambenih proizvoda utiče na boju proizvoda;

H₇: Brzina odmrzavanja prehrambenih proizvoda utiče na boju proizvoda;

H₈: Dužina skladištenja prehrambenih proizvoda utiču na boju proizvoda.

Pregled literature. Poglavlje Pregled literature je napisano na 65 stranica i podijeljeno je na 9 podpoglavlja. U prvom podpoglavlju kandidat je obradio aktuelnu literaturu koja se odnosi na sastav i svojstva proteina iz prehrambenih proizvoda (proteini iz mesa, pšenice, voća i povrća). Poznato je da postoji nekoliko nivoa strukture proteina. Pored, osnovne ili primarne strukture, koja predstavlja redoslijed vezivanja aminokiselina u polipeptidnom lancu, za molekule proteina karakteristični su i viši nivoi organizacije koji se nazivaju sekundarna, tercijarna i kvaterna struktura.

Pod uticajem velikog broja faktora iz spoljašnje i unutrašnje sredine dolazi do različitih promjena u strukturi proteina, kao što su koagulacija, denaturacija, agregacija proteina tokom kojih dolazi do narušavanja strukture proteina, pri čemu proteini gube biološke aktivnosti.

Od fizičkih faktora koji utiču na tok navedenih promjena proteina posebno su značajni: zagrijavanje na temperaturama iznad 50-60°C, povišeni pritisak, smrzavanje, jonizujuće zračenje, ultrazvuk i drugo, a od hemijskih agenasa bitni su uticaji izazvani djelovanjem jona vodonika i hidroksilnih jona (obično pri pH vrijednostima nižim od 4 i višim od 10), organskih rastvarača, uree, soli teških metala i dr. Kod proteina koji su sastavljeni od jednog polipeptidnog lanca dolazi do odmotavanja lanca.

Proteini predstavljaju najznačajnije gradivne materije mišićnog tkiva. Na proteine u mišićima (mesu) otpada oko 18.5%, a oko 75% na vodu. Tok promjena tokom proizvodnje i prerade mesa, zavisi od dvije grupe proteina.

Prvu grupu predstavljaju miofibrilarni proteini (proteini rastvorljivi u slabo koncentrovanim rastvorima soli, zatim proteini rastvorljivi u koncentrovanim rastvorima soli i nerastvorljivi miofibrilarni i citoskeletni ili miofibrilarno-citoskeletni proteini). Miofibrilarni proteini su organizovani u miofibrilima i njihovim podstrukturama, miofilamentima (debeli i tanki). Miofibrilarni proteini čine oko 50-60% ukupnih mišićnih proteina. U ovom poglavlju detaljno je prikazana struktura, pozicija i funkcija u strukturi miofibrila sljedećih proteina: miozin, C-protein, aktin, tropomiozin, troponin, troponin C, troponin I, troponin T, α -aktinin, β -aktinin, vinkulin, filamin, dezmin, titin i nebulin.

Drugu grupu proteina u mesu predstavljaju sarkoplazmatski proteini, proteini koji su rastvorljivi u vodi (albumini) ili veoma razblaženim rastvorima soli (globulini). Za ove proteine je karakteristično da kristališu i da su vrlo osjetljivi na denaturaciju. Tu spadaju mioglobin i enzimi energetskog metabolizma, koji sačinjavaju oko trećinu ukupnih mišićnih proteina (~ 30%).

Proteini pšenice su jedinjenja čiji se udio u zrnu pšenice obično kreće od 8 do 15%. U pšeničnom brašnu je oko 15% proteina rastvorljivo u vodi ili vodenim rastvorima soli (albumini ili globulini), a 85% su uskladišteni proteini. Na bazi Osborneove klasifikacione šeme, proteini pšenice se dijele u četiri grupe: albumini - proteini rastvorljivi u vodi, globulini - proteini rastvorljivi u rastvoru NaCl (slanom rastvoru), glijadini - proteini rastvorljivi u vodenom rastvoru alkohola i glutenini - proteini rastvorljivi u razblaženim kiselinama ili bazama.

Biljni proteini (proteini iz voća i povrća) se mogu podijeliti u dvije osnovne grupe. Prvu grupu čine skladišni (rezervni) proteini, koji nemaju funkcionalne aktivnosti, ali imaju ulogu depoa aminokiselina, koje se, po potrebi, koriste za rast i razvoj biljke. Drugu grupu predstavljaju funkcionalni proteini: enzimi, hormoni, zaštitni proteini i strukturni proteini. Sadržaj proteina varira zavisno od vrste i faze zrelosti. U radu su opisani proteini iz graška i leguminoza i proteini iz krompira.

Voda u prehrambenim proizvodima može biti slobodna i vezana. Količina slobodne vode je značajan faktor koji utiče na mikrobiološke i biohemijske procese u hrani. Slobodna voda je dio vode koji se može smrznuti. Slobodnu vodu čini dio ukupne vode koja se ponaša kao rastvarač, čiji je napon vodene pare skoro jednak naponu "čiste" vode, a aktivnost praktično jednaka jedinici. Pod vezanom vodom podrazumijeva se voda koja se ne može smrznuti.

Kristalizacija vode u led u prehrambenim proizvodima odvija se u dvije faze: faza nukleacije (pojava centara kristalizacije) i faza rasta kristala. Nukleacija u prehrambenim proizvodima je uvijek heterogena. Heterogena nukleacija je katalizovana stranim površinama ili sitnim česticama čija je površinska konfiguracija slična ledu. Čestice prašine i hrapavost površine ubrzavaju nukleaciju i olakšavaju formiranje leda.

U drugom podpoglavlju detaljno su analizirani osnovni principi smrzavanja hrane u cilju njenog konzervisanja i produženja održivosti. Sastojci hrane, a posebno labilne komponente, u smrznutim namirnicama se čuvaju bolje nego u proizvodima konzervisanim na drugi način. Trajnost (održivost) smrznutih proizvoda zavisi od vrste proizvoda i postupaka smrzavanja. Osim što značajno povećava održivost lako kvarljivih namirnica,

smrzavanjem je osigurano kontinuirano snabdijevanje potrošača i promet prehrambenih proizvoda na svjetskom nivou. Smrzavanje ima i određene ekonomske prednosti koje se ogledaju u utrošku energije za provođenje postupka smrzavanja i mogućnostima primjene jeftinijeg ambalažnog materijala (karton, papir, plastične mase i sl.).

Smrzavanje hrane počinje kada se hrana nađe u kontaktu sa hladnim medijem. Brzina smrzavanja se definiše kao odnos najkraćeg rastojanja od površine do toplotnog centra proizvoda i vremena koje protekne od momenta kada se postigne temperatura površine od 0°C do momenta kada se u centru proizvoda dostigne temperatura koja je za 10°C niža od temperature kristalizacije. Brzina smrzavanja se izražava u centimetru po jedinici vremena. Proučavanje promjene temperature tokom smrzavanja je osnova za razumijevanje promjena u proizvodu koje se dešavaju u toku samog procesa. Brzina smrzavanja zavisi od: cirkulacije vazduha (koja može ubrzati prenos toplote), materijala za pakovanje (koji treba da ima malu izolacionu vrijednost), prisustva vazduha, debljine proizvoda i količine masnog tkiva.

Brzina smrzavanja utiče na broj i mjesto formiranja nukleusa, veličinu kristala leda i stepen dislokacije vode. Tokom smrzavanja dolazi do narušavanja ravnoteže u polidisperznom sistemu ćelije, što se odražava na povećanje koncentracije elektrolita, dehidracije i precipitacije koloida, s tendencijom izlaska vode i kristalizacijom u međućelijske prostore. Taj je fenomen jače izražen kod sporog smrzavanja. Tokom sporog smrzavanja obrazuje se mali broj kristala leda većih dimenzija, koji su neravnomerno raspoređeni u ekstracelularnim prostorima. Kod brzog smrzavanja obrazuje se veći broj kristalizacionih centara, koji su sitniji i ravnomjerno raspoređeni u ćeliji i međućelijskom prostoru i uzrokuju manja oštećenja tkiva.

Smrzavanje uslovljava određene veće ili manje ireverzibilne promjene u prehrambenim proizvodima. Te promjene su posljedica stvaranja leda. One dovode do promjene kvaliteta proizvoda nakon odmrzavanja. Veličina kristala leda, koji se nalaze u proizvodu, nakon završetka procesa smrzavanja značajno utiče na kvalitet proizvoda. Međutim, kod prehrambenih proizvoda na te pojave utiču i drugi faktori, kao što su: vrsta proizvoda, anatomska građa, fiziološko stanje i slično.

Uticaj smrzavanja na kvalitet hrane je opisan u trećem podpoglavlju Pregleda literature: mehanička oštećenja strukture hrane, promjena koncentracije rastvorenih supstanci, promjena zapremine, promjena mjesta lokacije vode i promjena boje namirnica.

U četvrtom podpoglavlju opisane su promjene namirnica u toku skladištenja kod niskih temperatura. Analizom su obuhvaćene: fizičke, hemijske i biohemijske promjene, kao i gubitak mase proizvoda u toku skladištenja kod niskih temperatura.

U naredna tri podpoglavlja opisane su promjene svojstava namirnica životinjskog porijekla - meso i proizvodi od mesa (peto podpoglavlje), pekarskih proizvoda (šesto podpoglavlje) i voća i povrća (sedmo podpoglavlje) tokom smrzavanja.

U osmom podpoglavlju su opisani postupci odmrzavanja proizvoda i njihov uticaj na svojstva proizvoda. Na osnovu brojnih ispitivanja je utvrđeno da je odmrznuta namirnica, koja je prije toga bila smrznuta, više podložna kvarenju od namirnice koja nije bila smrznuta. Tokom odmrzavanja jedan dio vode, nakon prelaska iz čvrstog u tečno stanje, izlazi iz namirnice. Zajedno sa vodom iz namirnice se izdvaja i dio rastvorljivih sastojaka i smanjuje

nutritivna vrijednost proizvoda. Na kvalitet odmrznute namirnice, pored brzine smrzavanja i uslova skladištenja, djelimično može da utiče brzina odmrzavanja.

U devetom podpoglavlju su opisane promjene proteina u toku smrzavanja i skladištenja prehrambenih proizvoda. Smanjenje količine vode u tečnom stanju i povećanje koncentracije elektrolita tokom smrzavanja može dovesti do promjene strukture proteina. Poznato je da sposobnost biljnih i životinjskih tkiva da vežu vodu kao i sposobnost resorpcije vode tokom odmrzavanja zavisi od stanja proteina. Ako u toku smrzavanja i skladištenja proizvoda u smrznutom stanju dođe do promjene stanja proteina, tokom odmrzavanja tkivo nema sposobnost da apsorbuje svu količinu vode koja nastaje prilikom odmrzavanja kristala leda što dovodi do neželjenog oslobađanja određene količine vode iz proizvoda i promjene izgleda i teksture proizvoda.

Zadaci istraživanja. Svrha ove disertacije je optimizacija procesa smrzavanja prehrambenih proizvoda biljnog i životinjskog porijekla u cilju sprečavanja ili smanjenja hemijskih promjena proteina, a time i smanjenja količine otpuštene vode nakon odmrzavanja i dobijanja stabilnijih proizvoda. U tom cilju je bilo potrebno:

- Izvršiti smrzavanje proizvoda različitom brzinom smrzavanja;
- Izvršiti skladištenje prethodno smrznutih proizvoda određeni vremenski period;
- Izvršiti odmrzavanje proizvoda pod različitim uslovima.

Efekat navedenih tretmana je utvrđen mjerenjem i kontrolisanjem različitih parametara kroz sljedeće analize:

- 1) Promjena faznih prelaza i određivanje termofizičkih svojstava proizvoda (temperature faznih prelaza, toplota faznih prelaza i dr.);
- 2) Određivanje gubitka mase (kalo smrzavanja/odmrzavanja);
- 3) Mikroskopsko određivanje strukture smrznutih proizvoda;
- 4) Promjena teksture proizvoda smrznutih i skladištenih pod različitim uslovima određivanjem više parametara (čvrstoća, inicijalna i naknadna elastičnost, kohezivnost, otpor žvakanju);
- 5) Promjena proteina tokom smrzavanja i skladištenja smrznutih proizvoda pod različitim uslovima (kvalitativni i kvantitativni parametri);
- 6) Promjena boje i stabilnost boje tokom smrzavanja i skladištenja proizvoda (Instrumentalni pokazatelji formirane boje: L^* (svjetloća boje), a^* (udio crvene ili zelene boje), b^* (udio žute ili plave boje), h (hue angle – nijansa boje), C^* (zasićenost boje), R (odnos crvene i žute boje) i BI (indeks braon boje);
- 7) Promjena pH vrijednosti tokom smrzavanja i skladištenja;
- 8) Promjena aktivnosti vode (a_w) tokom smrzavanja i skladištenja;
- 9) Promjena sposobnosti vezivanja vode tokom smrzavanja i skladištenja;
- 10) Promjena ukupnog sadržaja vode u proizvodima;

- 11) Promjena ukupnog sadržaja proteina u proizvodima;
- 12) Senzorna ocjena proizvoda i
- 13) Statistička obrada dobijenih rezultata.

Materijal i metode rada. Smrzavanje uzoraka prehrambenih proizvoda (svježe meso, svježe voće i povrće, pekarski proizvodi) vršeno je na različitim temperaturama u intervalu od -20 °C do -80°C. Za smrzavanje korišten je aparat Arctiko UPUL 580. Temperatura u centru proizvoda praćena je tokom cijelog procesa smrzavanja korištenjem digitalnog termometra sa termoparom (Tesko AG 922). Proces smrzavanja je vođen do temperature od -20 °C u centru proizvoda, a nakon toga uzorci su skladišteni na istoj temperaturi do momenta vršenja analiza. Uzorci su ispitivani u različito vrijeme tokom skladištenja (1, 15, 30, 45 i 60 dana nakon smrzavanja). Prije analize uzorci su odmrznuti na jedan od sljedećih načina: 10 sati na temperaturi 8 °C ili 2 sata na 20 °C i u mikrotalasnoj pećnici.

Smrzavanje uzoraka mesa

Ispitivanje je provedeno na mesu svinja, uzorci leđnih mišića *M. Longissimus Dorsi* svinja starosti manje od jednu godinu i prosječne bruto mase oko 130-140 kg, nakon hlađenja 24 sata. Poslije odvajanja mišića sa trupa, komadi su sječeni na šnite debljine oko 2,0 cm i nakon označavanja uzorci su pakovani u polietilenske vrećice i smrzavani različitim brzinama.

Smrzavanje uzoraka voća i povrća

Za potrebe ovog rada vršeno je smrzavanje sljedećih vrsta voća i povrća: jabuka, jagoda, krompir, mrkva, koji su nabavljeni u lokalnom marketu. Neposredno prije smrzavanja uzorci jabuke, mrkve i krompira su isječeni na komade 5x1x1 cm, pakovani u pvc vrećice i smrzavani različitom brzinom. Uzorci jagode su smrzavani kao cijeli plodovi.

Smrzavanje tijesta

Za pripremu tijesta korištene su tri vrste brašna različitog kvaliteta i to:

- Uzorak brašna 1 (sadržaj vlažnog glutena 23,1 %)
- Uzorak brašna 2 (sadržaj vlažnog glutena 25,4 %)
- Uzorak brašna 3 (sadržaj vlažnog glutena 32,4 %)

Od navedenih vrsta brašna pripremljen je standardni farinografski zamjes u količini brašna od 300g (Farinograf – Brabender, Farinograph E, tip: 810130). Komadi tijesta, su pomoću laminatora (Tekno Stamap S.R.L., Sfogl. Autosmart) razvijeni na debljinu od 1 cm, a komadi tijesta koji su smrzavani su bili prečnika 5 cm. Uzorci su upakovani u pvc vrećice i smrzavani različitim brzinama.

Promjene i ponašanje proteina tokom smrzavanja, skladištenja i odmrzavanja prehrambenih proizvoda (kvalitativni i kvantitativni parametri) su praćeni primjenom Kapilarne gel elektroforeze (Agilent, CE 7100).

Praćenje faznih prelaza i određivanje termofizičkih svojstava proizvoda vršeno je instrumentalno, primjenom diferencijalnog skenirajućeg kalorimetra DSC (204 F1 Phoenix, NETZSCH – Gerätebau GmbH, Germany). Vršene su DSC analize različitih prehrambenih proizvoda: meso (goveđe meso - *M. Longissimus dorsi*, svinjsko meso - *M. Longissimus dorsi* i pileće meso - *Pectoralis major*); voće i povrće (jabuka, krompir, mrkva); pekarski proizvodi (tijesto izrađeno od 3 različite vrste brašna označeno oznakama A, B, C); gotovi proizvodi (termički obrađeno meso, hljebne mrvice, termički obrađena jabuka).

Instrumentalno mjerenje boje svinjskog mesa (*M. Longissimus dorsi*, MLD) vršeno je pomoću Spektrofotometra CM-2600d (KONICA MINOLTA SENSING INC, Japan). Spektrofotometar je opremljen sa standardnim izvorom svjetlosti D₆₅, ugao standardnog posmatrača je 10°, a kalibracija instrumenta se vrši u odnosu na bijelu ploču. Karakteristike boje su iskazane u CIE L*a*b* (CIE, 1976), koji je zasnovan na tri koordinate preko kojih se definiše boja uzoraka: L* (svjetloća boje), a* (udio crvene boje (+a*) ili zelene boje (-a*)) i b* (udio žute boje (+b*) ili plave boje (-b*)). Izmjerene vrijednosti L* a* b* su neposredno očitane sa uređaja, a na osnovu tih vrijednosti određene su vrijednosti i sledećih parametara boje: h (hue angle – nijansa boje), C* (zasićenost boje), R (odnos crvene i žute boje), BI (indeks braon boje).

Tekstura svinjskog mesa određena je primjenom TPA (*Texture Profile Analysis*) testa (metoda dvostruke kompresije), uz pomoć teksturometra TA.XT2 Texture Analyser (*Stable Micro Systems, England*). Metodom dvostruke kompresije dobijeni su sledeći pokazatelji: čvrstoća, inicijalna elastičnost, naknadna elastičnost, kohezivnost i otpor žvakanju.

Promjena pH vrijednosti tokom smrzavanja i skladištenja je mjerena instrumentalno, upotrebom pH – metra.

Promjena aktivnosti vode (a_w) tokom smrzavanja i skladištenja je mjerena instrumentalno, aparatom za mjerenje aktivnosti vode.

Promjena sposobnosti vezivanja vode tokom smrzavanja i skladištenja je mjerena metodom kompresije.

Određivanje ukupnog sadržaja vode u proizvodima je vršeno sušenjem do konstantne mase na 105°C.

Određivanje ukupnog sadržaja proteina u proizvodima je vršeno metodom po Kjeldahl-u.

Senzorna ocjena odabranih pokazatelja kvaliteta proizvoda termički obrađenog svinjskog mesa (boja, izgled, tekstura, ukus i miris) je vršena primjenom metoda deskriptivne senzorne analize, ocjenjivanje je vršila grupa obučanih ocjenjivača sa iskustvom, iz kategorije eksperata.

Statistička obrada dobijenih rezultata vršena je primjenom softverskog paketa Microsoft Excel 2013 i računarskog programa IBM SPSS Statistics 22.0 za Windows (Armonk, NY, United States). Rezultati dobijeni u ovom radu su prikazani kao srednje vrijednosti pojedinačnih rezultata tri slučajno odabrana uzorka proizvoda $\pm$ standardna

devijacija (SD). Značajnost razlika između aritmetičkih sredina je određena analizom varijanse sa jednom nezavisno promjenjivom (*One way ANOVA*) i višestrukog testa intervala (*Dankanov Post-hoc test*) i izražena sa 95% vjerovatnoće ($p < 0,05$).

Rezultati i diskusija. Rezultati dobijeni u ovoj doktorskoj disertaciji su prikazani u poglavlju 5. U podpoglavlju 5.1. prikazani su rezultati dobijeni ispitivanjem hemijskih i fizičko-hemijskih svojstava MLD svinja. U podpoglavlju 5.2. prikazani su rezultati dobijeni ispitivanjem miofibrilarnih i sarkoplazmatskih proteina u MLD svinja, proteina iz voća i povrća i proteina pšeničnog tijesta. U podpoglavlju 5.3. prikazani su rezultati dobijeni instrumentalnim mjerenjem boje mesa svinjskog mesa, koje je su smrzavano različitom brzinom i nakon određenog vremena skladištenja odmrzavano na sobnoj temperaturi, u frižideru i u mikrotalasnoj pećnici. U podpoglavlju 5.4 prikazani su rezultati dobijeni ispitivanje reoloških svojstava svinjskog mesa, koje je smrzavano različitom brzinom i nakon određenog vremena skladištenja odmrzavano na sobnoj temperaturi, u frižideru i u mikrotalasnoj pećnici. U podpoglavlju 5.5 prikazano je mikroskopsko određivanje strukture uzoraka svinjskog mesa. Na kraju, u podpoglavlju 5.6. prikazani su rezultati senzorne ocjene termički obrađenog svinjskog mesa.

Fizičko-hemijska i hemijska svojstva

Tokom ispitivanja uticaja brzine smrzavanja i postupaka odmrzavanja na svojstva prehrambenih proizvoda ispitano je više hemijskih i fizičko-hemijskih svojstava sa ciljem da se utvrdi uticaj sastava i svojstava proizvoda (MLD svinja) na procese koji se dešavaju u proizvodu tokom smrzavanja i odmrzavanja, prije svega na ponašanje vode i odnos drugih sastojaka prema vodi u proizvodu.

Prosječan sadržaj vode u svinjskom mesu koje je odmrznuto na sobnoj temperaturi statistički značajno zavisi od brzine smrzavanja ($p < 0,05$) i dužine skladištenja ($p < 0,05$). Uzorci mesa koji su smrznuti sporijim postupcima smrzavanja i koji su odmrznuti na sobnoj temperaturi imali su statistički značajno manju količinu vode nego uzorci koji su smrznuti brzim postupkom smrzavanja. Nakon 1 dan skladištenja smrznutih uzoraka mesa i nakon odmrzavanja na sobnoj temperaturi, sadržaj vode u uzorcima mesa se kretao od 72,00% u uzorcima koji su smrznuti brzinom 0,50 cm/h, do 73,16% u uzorcima koji su smrznuti najvećom brzinom (1,43 cm/h). U toku 60 dana skladištenja sadržaj vode u svim uzorcima mesa se smanjivao i na kraju perioda skladištenja najmanji sadržaj vode (68,90%) je zabilježen kod uzoraka koji su smrznuti najmanjom brzinom smrzavanja (0,23 cm/h), a najveći sadržaj vode (72,03%) imali su uzorci koji su smrznuti brzinom 1,25 cm/h.

Nakon 1 dan skladištenja smrznutih uzoraka mesa na temperaturi -20°C , i nakon odmrzavanja na temperaturi frižidera, u uzorcima mesa koji su smrznuti brzinom 0,23 cm/h zabilježen je najmanji prosječan sadržaj vode (72,02%), dok je kod uzoraka koji su smrznuti najvećom brzinom (1,43 cm/h) zabilježen statistički značajno veći sadržaj vode ($p < 0,05$) u iznosu od 73,85%. Promjene u sadržaju vode kod uzoraka svinjskog mesa koje je odmrznuto u frižideru bile su nešto manje nego kod uzoraka koji su odmrznuti na sobnoj temperaturi. Nakon 60 dana skladištenja najmanji prosječan sadržaj vode imali su uzorci smrznuti

brzinom od 0,23 cm/h (71,06%) i 0,40 cm/h (71,05%), dok su uzorci smrznuti brzinom 1,10 cm/h imali veći sadržaj vode ($p < 0,05$) u iznosu od 73,33%.

Nakon 1 dan skladištenja smrznutih uzoraka mesa na temperaturi $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, i nakon odmrzavanja u mikrotalasnoj pećnici, najmanji prosječan sadržaj vode je zabilježen u uzorcima koji su smrznuti brzinom 0,50 cm/h (72,06%), a najveći sadržaj vode (73,20%) je zabilježen kod uzoraka koji su smrznuti brzinom 1,43 cm/h. U toku skladištenja, kod uzoraka svinjskog mesa koji su odmrznuti u mikrotalasnoj pećnici došlo je do smanjenja sadržaja vode i na kraju perioda skladištenja sadržaj vode se kretao od 69,96 (brzina 0,23 cm/h) do 72,62 (brzina 1,10 cm/h).

Analizom sadržaja proteina ustanovljeno je da su svježi uzorci svinjskog mesa, neposredno prije smrzavanja imali prosječan sadržaj proteina u iznosu od 21,50%. Za potrebe ovog eksperimenta ispitan je sadržaj proteina u uzorcima svinjskog mesa koji su smrznuti različitim brzinama (0,30 cm/h; 0,50 cm/h; 0,90 cm/h; 1,10 cm/h i 1,43 cm/h) i odmrznuti u frižideru. Na osnovu dobijenih rezultata ustanovljeno je da sa gubitkom vode tokom odmrzavanja dolazi do povećanja sadržaja proteina. Kao i kod sadržaja vode, u ispitivanim uzorcima mesa, ustanovljeno je da različita brzina smrzavanja statistički značajno utiče na sadržaj proteina u odmrznutom mesu ($p < 0,05$). Nakon jedan dan skladištenja uzoraka mesa na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ i odmrzavanja u frižideru, prosječan sadržaj proteina se kretao od 23,34 % (brzina 0,50 cm/h) do 23,76% (brzina 1,43 cm/h). Za razliku od promjene sadržaja vode, tokom skladištenja dolazi do povećanja sadržaja proteina u ispitivanim uzorcima mesa. Na kraju perioda skladištenja najmanji prosječan sadržaj proteina, u iznosu od 23,80%, ustanovljen je kod uzoraka mesa koji su smrznuti brzinom 0,30 cm/h, a najveći prosječan sadržaj proteina u iznosu od 24,27% ustanovljen je kod uzoraka mesa koji su smrznuti brzinom 1,10 cm/h.

Promjene lanaca proteina tokom smrzavanja utiču na smanjenje broja slobodnih naelektrisanih grupa što dovodi do promjene pH odmrznutog mesa. Na osnovu dobijenih rezultata može se konstatovati da brzina smrzavanja statistički značajno ($p < 0,05$) utiče na promjene pH vrijednosti mesa, odmrznutog na sobnoj temperaturi. Kod uzoraka mesa koji su smrznuti sporijim postupcima smrzavanja ustanovljene su statistički značajno manje vrijednosti pH ($p < 0,05$), nego kod uzoraka mesa koji su smrznuti brzim postupcima smrzavanja. Tokom 60 dana skladištenja smrznutog mesa na temperaturi $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ i nakon odmrzavanja na sobnoj temperaturi, najmanja prosječna pH vrijednost je izmjerena kod uzoraka svinjskog mesa koji su smrznuti brzinom 0,23 cm/h, nakon 15 dana skladištenja ($\text{pH}=5,38$), a najveća pH vrijednost je zabilježena nakon 60 dana skladištenja ($\text{pH}=5,95$), kod uzoraka svinjskog mesa koji su smrznuti brzinom 1,43 cm/h.

Na osnovu dobijenih rezultata ustanovljeno je da povećanje brzine smrzavanja statistički značajno ($p < 0,05$) utiče na povećanje pH vrijednosti mesa, odmrznutog na temperaturi frižidera. Tokom 60 dana skladištenja smrznutog mesa na temperaturi $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ i nakon odmrzavanja uzoraka mesa na temperaturi frižidera, najmanje prosječne pH vrijednosti su izmjerene kod uzoraka koji su smrznuti brzinom 0,23 cm/h, nakon 15 dana skladištenja ($\text{pH}=5,38$) i kod uzoraka koji su smrznuti brzinom 0,40 cm/h, nakon 60 dana skladištenja, a

najveće pH vrijednosti su zabilježene kod uzoraka svinjskog mesa koji su smrznuti brzinom 1,10 cm/h, nakon 15 dana skladištenja ($\text{pH}=5,99$) i nakon 45 dana skladištenja ($\text{pH}=5,98$).

Slično kao i kod uzoraka mesa koje je odmrznuto na sobnoj temperaturi i u frižideru, i kod uzoraka mesa odmrznutog u mikrotalasnoj pećnici povećanje brzine smrzavanja uzrokuje statistički značajno povećanje pH vrijednosti odmrznutog mesa ($p<0,05$). Vrijednosti pH svinjskog mesa koje je odmrznuto u mikrotalasnoj pećnici, tokom 60 dana skladištenja, kretale su se u rasponu od 5,32, koliko je izmjereno nakon 30 dana skladištenja kod uzoraka mesa koji su smrznuti brzinom 0,30 cm/h do 5,88 nakon 60 dana skladištenja, kod uzoraka svinjskog mesa smrznutog brzinom 1,10 cm/h.

Dalje je prikazan uticaj brzine smrzavanja i vremena skladištenja na sposobnost vezivanja vode SVV (cm^2) mesa odmrznutog na sobnoj temperaturi. Na osnovu dobijenih rezultata može se konstatovati da brzina smrzavanja statistički značajno utiče ($p<0,05$) na sposobnost vezivanja vode mesa, odmrznutog na sobnoj temperaturi. Kod uzoraka mesa koji su smrznuti sporijim postupcima smrzavanja ustanovljene su statistički značajno veće prosječne vrijednosti SVV (cm^2), nego kod uzoraka mesa koji su smrznuti bržim postupcima smrzavanja ($p<0,05$), što ukazuje na činjenicu da meso smrznuto bržim postupcima smrzavanja ima veću sposobnost zadržavanja vode i manju količinu otpuštene vode tokom kompresije.

U toku 60 dana skladištenja smrznutog mesa na temperaturi -20°C i nakon odmrzavanja na sobnoj temperaturi, najmanja prosječna vrijednost SVV (cm^2) je izmjerena kod uzoraka svinjskog mesa koji su smrznuti brzinom 1,00 cm/h, nakon 60 dana skladištenja ($\text{SVV}=2,19 \text{ cm}^2$), a najveća prosječna vrijednost SVV (cm^2) zabilježena je nakon 60 dana skladištenja, kod uzoraka svinjskog mesa koji su smrznuti brzinom 0,23 cm/h ($\text{SVV}=6,93 \text{ cm}^2$). Statistički značajan uticaj dužine skladištenja na SVV (cm^2) ($p<0,05$) uočen je kod uzoraka koji su smrznuti brzinama 0,50 cm/h i 1,10 cm/h, dok kod ostalih uzoraka nije utvrđen statistički značajan uticaj dužine skladištenja na sposobnost vezivanja vode svinjskog mesa, odmrznutog na sobnoj temperaturi ($p>0,05$).

U nastavku je prikazan uticaj brzine smrzavanja i vremena skladištenja na sposobnost vezivanja vode SVV (cm^2) mesa odmrznutog u frižideru. Brzina smrzavanja statistički značajno utiče ($p<0,05$) na sposobnost vezivanja vode mesa, odmrznutog u frižideru. Kod uzoraka mesa koji su smrznuti sporijim postupcima smrzavanja metodom kompresije ustanovljene su statistički značajno veće prosječne vrijednosti SVV (cm^2), odnosno količine otpuštene tečnosti, nego kod uzoraka mesa koji su smrznuti bržim postupcima smrzavanja ($p<0,05$). Na osnovu toga može se konstatovati meso smrznuto bržim postupcima smrzavanja ima veću sposobnost zadržavanja vode i otpušta manju količinu tečnosti tokom kompresije, nego meso koje je smrznuto sporijim brzinama smrzavanja. Smrzavanje mesa uglavnom rezultira smanjenjem SVV i povećanom količinom tečne faze koja se oslobađa prilikom odmrzavanja, što se objašnjava promjenom stanja proteina koje su uzrokovane formiranjem kristala leda.

Tokom 60 dana skladištenja smrznutog mesa i nakon odmrzavanja na temperaturi frižidera, najmanja prosječna vrijednost SVV (cm^2) je izmjerena kod uzoraka svinjskog mesa koji su smrznuti brzinom 1,00 cm/h, nakon 15 dana skladištenja ($\text{SVV}=1,97 \text{ cm}^2$), a najveća

prosječna vrijednost SVV (cm^2) zabilježena je nakon 60 dana skladištenja, kod uzoraka svinjskog mesa koji su smrznuti brzinom 0,23 cm/h ($\text{SVV}=6,05 \text{ cm}^2$). Statistički značajan uticaj dužine skladištenja na SVV (cm^2) ($p<0,05$) uočen je kod uzoraka koji su smrznuti brzinom 1,25 cm/h, dok kod ostalih uzoraka nije utvrđen statistički značajan uticaj dužine skladištenja na sposobnost vezivanja vode svinjskog mesa, odmrznutog na temperaturi frižidera ($p>0,05$).

Nakon jedan dan skladištenja smrznutih uzoraka mesa i nakon odmrzavanja u mikrotalasnoj pećnici, nije zabilježen statistički značajan uticaj brzine smrzavanja na prosječne vrijednosti SVV (cm^2) ($p>0,05$), dok je tokom preostalog perioda skladištenja zabilježene statistički značajne promjene prosječnih vrijednosti SVV (cm^2) u zavisnosti od brzine smrzavanja ($p<0,05$).

Na osnovu dobijenih rezultata uticaj brzine smrzavanja na ukupni gubitak mase tokom smrzavanja, skladištenja u smrznutom stanju i odmrzavanja uzoraka mesa svinja (*M.longissimus dorsi*) na sobnoj temperaturi, može se konstatovati da brzina smrzavanja statistički značajno utiče ($p<0,05$) na ukupni gubitak mase tokom smrzavanja, skladištenja u smrznutom stanju i odmrzavanja uzoraka mesa svinja (*M.longissimus dorsi*) na sobnoj temperaturi. Kod uzoraka mesa koji su smrznuti sporijim postupcima smrzavanja ustanovljene su statistički značajno veće prosječne vrijednosti gubitka mase, nego kod uzoraka mesa koji su smrznuti bržim postupcima smrzavanja ($p<0,05$).

Nakon 1 dan skladištenja smrznutih uzoraka i nakon odmrzavanja na sobnoj temperaturi ukupan gubitak mase je iznosio od 4,63% kod uzoraka koji su smrznuti brzinom 0,23 cm/h, do 1,49 % kod uzoraka smrznutih brzinom 1,43 cm/h. Tokom 60 dana skladištenja nije zabilježena statistički značajna promjena kala smrzavanja, skladištenja i odmrzavanja ($p>0,05$). Najveći gubitak mase, na kraju perioda skladištenja zabilježen je kod uzoraka svinjskog mesa koji su smrznuti brzinom 0,23 cm/h (5,02%), a najmanji gubitak mase su imali uzorci smrznuti brzinom 1,43 cm/h (1,71%).

Dalje je prikazan uticaj brzine smrzavanja na ukupni gubitak mase tokom smrzavanja, skladištenja u smrznutom stanju i odmrzavanja uzoraka mesa svinja (*M.longissimus dorsi*) u frižideru. Uzorci svinjskog mesa koji su smrznuti sporijim postupcima smrzavanja imali su su statistički značajno veće prosječne vrijednosti gubitka mase nakon odmrzavanja, nego uzorci svinjskog mesa koji su smrznuti bržim postupcima smrzavanja ($p<0,05$).

Nakon 1 dan skladištenja smrznutih uzoraka i nakon odmrzavanja u frižideru ukupan gubitak mase je iznosio od 3,61% kod uzoraka koji su smrznuti brzinom 0,23 cm/h, do 0,78 % kod uzoraka smrznutih brzinom 1,43 cm/h. Uticaj dužine skladištenja na kalo smrzavanja, skladištenja i odmrzavanja nije bio statistički značajan ($p>0,05$). Nakon 60 dana skladištenja najveći gubitak mase zabilježen je kod uzoraka svinjskog mesa koji su smrznuti brzinom 0,23 cm/h (3,70%), a najmanji gubitak mase su imali uzorci smrznuti brzinom 1,43 cm/h (0,86%).

Dalje je prikazan uticaj brzine smrzavanja na ukupni gubitak mase tokom smrzavanja, skladištenja u smrznutom stanju i odmrzavanja uzoraka mesa svinja (*M.longissimus dorsi*) u mikrotalasnoj pećnici. Na osnovu dobijenih rezultata može se uočiti da su uzorci svinjskog mesa koji su smrznuti sporijim postupcima smrzavanja i odmrznuti u mikrotalasnoj pećnici

imali statistički značajno ($p < 0,05$) veće prosječne vrijednosti gubitka mase nakon odmrzavanja, nego uzorci svinjskog mesa koji su smrznuti bržim postupcima smrzavanja.

Nakon 1 dan skladištenja smrznutih uzoraka i nakon odmrzavanja u mikrotalasnoj pećnici ukupan gubitak mase je iznosio od 2,33% kod uzoraka koji su smrznuti brzinom 0,23 cm/h, do 0,45 % kod uzoraka smrznutih brzinom 1,43 cm/h. Tokom 60 dana skladištenja nisu uočene statistički značajne promjene ($p > 0,05$) kala smrzavanja, skladištenja i odmrzavanja i nakon 60 dana skladištenja najveći gubitak mase zabilježen je kod uzoraka svinjskog mesa koji su smrznuti brzinom 0,40 cm/h (2,80%), a najmanji gubitak mase su imali uzorci smrznuti brzinom 1,43 cm/h (0,61%).

U nastavku je prikazan uticaj brzine smrzavanja na aktivnost vode (a_w) u svinjskom mesu odmrznutom na sobnoj temperaturi (S), u frižideru (F) i u mikrotalasnoj pećnici (M). Izmjerena a_w vrijednost kod svježeg mesa neposredno prije smrzavanja je iznosila 0,985. Mjerenje a_w vrijednosti je vršeno kod uzoraka svinjskog mesa smrznutog brzinama 0,23; 0,60 i 1,43 cm/h. Uzorci svinjskog mesa odmrznuti na sobnoj temperaturi imali su a_w vrijednost u rasponu vrijednosti od 0,984 (brzina 1,43 cm/h, nakon 1 dan skladištenja) do 0,999 (brzina 0,23 i 0,60 cm/h, nakon 60 dana skladištenja). Kod uzoraka svinjskog mesa koje odmrznuto u frižideru a_w vrijednosti su iznosile od 0,976 (brzina 0,23 cm/h, nakon 15 dana skladištenja) do 0,998 (brzina 0,60 cm/h, nakon 45 dana skladištenja). Uzorci svinjskog mesa odmrznuti u mikrotalasnoj pećnici imali su izmjerenu a_w vrijednost u rasponu od 0,983 (brzina 0,23 cm/h, nakon 15 dana skladištenja) do 0,999 (brzina 0,60 cm/h, nakon 60 dana skladištenja).

Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija (DSC)

Brzina hlađenja i zagrijavanja (2, 5, 10, 15, 20 °C/min) statistički značajno utiče ($p < 0,05$) na termofizička svojstva (entalpija smrzavanja, entalpija odmrzavanja, temperature početka kristalizacije i topljenja, temperature maksimuma/minimuma pikova krivih kristalizacije i topljenja, temperature završetka kristalizacije i topljenja i temperaturni interval faznih promjena kristalizacije i topljenja) ispitivanih prehrambenih proizvoda (goveđe meso, pileće meso, svinjsko meso, pšenično tijesto, voće i povrće i gotove proizvode). Brzina hlađenja i zagrijavanja (2, 5, 10, 15, 20 °C/min) statistički značajno utiče ($p < 0,05$) na odnos smrznute i nesmrznute vode u ispitivanim prehrambenim proizvodima (goveđe meso, pileće meso, svinjsko meso, pšenično tijesto, voće i povrće i gotove proizvode).

Proteini

Na narednih 105 stranica prikazani su rezultati dobijeni ispitivanjem ponašanja proteina u mesu, tijestu, voću i povrću, koje je smrzavano pod različitim uslovima, skladišteno različit period i odmrzavano na tri načina.

Za razdvajanje proteina iz mesa korištena je kapilarna gel elektroforeza, pri čemu je proces razdvajanja trajao 30 min. Svaki od proteina prisutnih u ekstraktu je razdvojen u specifičnom vremenu, koje je konstantno za svaki od proteina. Na osnovu vremena migracije određene su molekulske mase proteina. Na osnovu dobijenih elektroforeograma identifikovani su sljedeći miofibrilarni proteini: timozin, miozin laki lanac-3, miozin laki lanac-2, troponin

C, troponin I, miozin laki lanac-1, tropomiozin 1, tropomiozin 2, troponin T, aktin, dezmin, troponin, protein C, miozin teški lanac.

Za svaki od identifikovanih miofibrilarnih proteina u radu su prikazani rezultati uticaja deset brzina smrzavanja (0,23 cm/h, 0,30 cm/h, 0,40 cm/h, 0,50 cm/h, 0,60 cm/h, 0,90 cm/h, 1,00 cm/h, 1,10 cm/h, 1,25 cm/h i 1,43 cm/h) prvog i 60-og dana skladištenja, te uticaj vremena skladištenja (1, 15, 30, 45 i 60 dana) kod tri brzine smrzavanja (0,23 cm/h, 0,60 cm/h i 1,43 cm/h) i tri načina odmrzavanja (sobna temperatura, temperatura frižidera i u mikrotalasnoj pećnici). Kao kvantitativni faktori određeni su relativna koncentracija proteina u datim uslovima. Tokom skladištenja kod svih uslova uočeno je smanjenje relativne koncentracije proteina troponin, desmin, HMM. Promjene blažeg intenziteta su uočene kod troponina T i proteina C. Uočena je pojava proteina relativne mase 30 kDa, čija se koncentracija povećala toko 60 dana skladištenja. Najmanje promjene proteina su uočene kod srednjih brzina smrzavanja (0,60 cm/h, 0,90 cm/h i 1,0 cm/h). Odmrzavanje u mikrotalasnoj pećnici je pokazalo najveći uticaj na promjene proteina, zatim odmrzavanje na sobnoj temperaturi, dok su najmanje promjene zabilježene kod uzoraka odmrznutih u frižideru.

U radu su prikazani sarkoplazmatski proteini dobijeni iz svježih uzoraka MLD mišića svinja. Ukupan broj identifikovanih pikova bio je 58, pri čemu je nakon njihovog razvrstavanja u grupe na bazi molekulskih masa, broj pikova u grupi sa najnižim masama (0-20 kDa) bio 35, broj pikova u grupi sa masama (20-50 kDa) je bio 15, broj pikova u grupi sa masama (50-100 kDa) je bio 7, u grupi sa masama (100-150 kDa) nije bilo identifikovanih pikova, a u grupi sa masama većim od 150 kDa identifikovan je jedan pik.

Kod svih uzoraka, bez obzira na brzinu smrzavanja i način odmrzavanja u toku 60 dana skladištenja dolazi do povećanja broja sarkoplazmatskih proteina molekulskih masa u rasponu od 50 do 100 kDa, dok je broj sarkoplazmatskih proteina, molekulskih masa u rasponu od 100 do 150 kDa i masa većih od 150 kDa je bio znatno manji od broja sarkoplazmatskih proteina manjih molekulskih masa i imao je tendenciju opadanja, tokom 60 dana skladištenja uzoraka na -20°C.

Iz rezultata dobijenih razdvajanjem pomoću CGE iz uzoraka tijesta smrznutog različitim brzinama i nakon odmrzavanja na sobnoj temperaturi, se vidi da brzina smrzavanja različito utiče na tijesto izrađeno od brašna različite jačine. Kod brašna slabog i prosječnog kvaliteta smrzavanje utiče na promjenu broja proteinskih podjedinica, i to najviše onih najmanjih molekulskih masa do 20 kDa. Brašno odličnog kvaliteta ne mijenja broj podjedinica u tretmanima smrzavanja. Kod brašna slabog kvaliteta praktično nema promjena koncentracija proteinskih podjedinica, dok se kod brašna prosječnog i odličnog kvaliteta sa povećanjem brzine smrzavanja smanjuje koncentracija proteinskih podjedinica molekulskih masa do 50 kDa, povećava kod većih od 50 kDa, a ne mijenja kod većih od 150 kDa.

Tokom ispitivanja u ovoj doktorskoj disertaciji korišteno je dvije vrste voća (jabuka i jagoda) i dvije vrste povrća (mrkva i krompir). Nakon smrzavanja kod pet različitih brzina, uzorci su skladišteni na -20 °C. Poslije definisanog vremena uzorci su odmrznuti kod sobne

temperature, nakon čega je izvršena ekstrakcija ukupnih proteina i njihovo razdvajanje pomoću kapilarne gel elektroforeze (CGE).

Nakon smrzavanja jabuke određeno vrijeme skladištenja na -20 °C (15 dana, 30 dana i 45 dana) poslije čega su uzorci odmrznuti na sobnoj temperaturi (18-20 °C), kod svih uzoraka, bez obzira na brzinu smrzavanja i vrijeme skladištenja, najveći broj proteina je izolovan u rasponu masa od 0 kDa do 20 kDa. Broj proteina većih molekulskih masa bio je neznatan. Tokom 45-todnevnog skladištenja rastao je broj proteina molekulske mase u rasponu molekulskih masa od 0 kDa do 20 kDa.

Nakon 15 dana skladištenja relativne koncentracije proteina molekulskih masa od 0 do 20 kDa su se kretale u rasponu od 31.10 % do 46.82% (kod uzoraka koji su smrznuti najmanjom brzinom). Nakon 30 dana skladištenja zabilježena je znatno veća koncentracija proteina molekulskih masa od 0 do 20 kDa i to od 48,14% do 92,04%, a nakon 45 dana koncentracija proteina molekulskih masa od 0 do 20 kDa je iznosila od 50,73% (brzina IV) do 74,77 % (brzina I). Relativne koncentracije proteina molekulskih masa od 20 do 50 kDa i proteina molekulskih masa većih od 150 kDa su kod svih uzoraka tokom skladištenja bile izrazito male, a znatno veće relativne koncentracije su zabilježene kod proteina molekulskih masa od 100 do 150 kDa.

Dalje je analiziran broj i relativna koncentracija ukupnih proteina dobijenih razdvajanjem pomoću CGE, iz uzoraka jagode smrznutih različitim brzinama, nakon određenog perioda skladištenja na -20°C i nakon odmrzavanja na sobnoj temperaturi. Kod svih uzoraka, bez obzira na brzinu smrzavanja i period skladištenja najveći broj proteinskih jedinica je zabilježen u rasponu masa od 0 kDa do 20 kDa, dok je broj proteina većih molekulskih masa bio znatno manji. Tokom 30 dana skladištenja broj proteina u rasponu molekulskih masa od 0 kDa do 20 kDa je imao tendenciju rasta.

Kod uzoraka jagode najveće relativne koncentracije proteina nakon 15 i 30 dana skladištenja su zabilježene kod proteina molekulskih masa od 0 kDa do 20 kDa, kao i od 100 kDa do 150 kDa. Relativne koncentracije proteina čije su molekulske mase bile u rasponu od 20 do 50 kDa i kod proteina sa molekulskim masama većim od 150 kDa su bile znatno manje.

Kod uzoraka krompira najveći broj proteina tokom 45 dana skladištenja je zabilježen kod proteina molekulskih masa od 0 kDa do 20 kDa. Najveće relativne koncentracije proteina tokom 45 dana skladištenja su zabilježene kod proteina molekulskih masa od 0 kDa do 20 kDa, zatim kod proteina molekulske mase od 100-150 kDa. Relativne koncentracije proteina čije su molekulske mase bile u rasponu od 50 do 100 kDa su bile znatno manje nego kod uzoraka svježeg krompira.

Bez obzira na brzinu smrzavanja i period skladištenja, kod svih uzoraka mrkve je najveći broj proteinskih jedinica zabilježen u rasponu masa od 0 kDa do 20 kDa, dok je broj proteina većih molekulskih masa bio znatno manji. Nakon 15 dana skladištenja nije uočena značajnija razlika u broju proteina molekulskih masa od 0 kDa do 20 kDa između svježeg uzorka i uzoraka koji su smrzavani različitim brzinama, dok je nakon 30 i 45 dana

broj proteina čije su molekulske mase bile od 0 kDa do 20 kDa kod svježih uzoraka bio znatno manji nego kod uzoraka koji su skladišteni u smrznutom stanju i odmrznuti prije ekstrakcije.

Boja

Brzina smrzavanja, uslovi skladištenja i način odmrzavanja statistički značajno ($p < 0,05$) utiču na promjene instrumentalno izmjerenih parametara boje (L^* , a^* , b^*) na površini odmrznutog mesa svinja. Veća brzina smrzavanja utiče na povećanje L^* i a^* bez obzira na način odmrzavanja, dok istovremeno kod povećanja brzine smrzavanja dolazi do smanjenja b^* vrijednosti. U toku skladištenja dolazi do smanjenja L^* i a^* , bez obzira na način odmrzavanja, dok kod veće brzine smrzavanja dolazi do povećanja b^* vrijednosti. U radu je ustanovljen statistički značajan uticaj ($p < 0,05$) načina odmrzavanja na instrumentalno izmjerene parametre boje.

Reološka svojstva

Brzina smrzavanja statistički značajno utiče ($p < 0,05$) na promjene instrumentalno izmjerenih parametara reoloških svojstava (tvrdoću i otpor žvakanju) ispitivanih uzoraka svinjskog mesa, odmrznutih na sobnoj temperaturi, temperaturi frižidera i u mikrotalasnoj pećnici, dok brzina smrzavanja, uslovi skladištenja i način odmrzavanja ($p > 0,05$) statistički značajno ne utiču na promjene instrumentalno izmjerenih parametara reoloških svojstava (inicijalnu elastičnost, odgođenu elastičnost i kohezivnost) ispitivanih uzoraka svinjskog mesa, odmrznutih na sobnoj temperaturi, temperaturi frižidera i u mikrotalasnoj pećnici.

Struktura smrznutog svinjskog mesa

Tokom sporog smrzavanja nastaje manji broj krupnih kristala leda koji su neravnomjerno raspoređeni u ekstracelularnim prostorima, dok tokom brzog smrzavanja nastaje veći broj sitnih kristala leda koji su smješteni u ćelijama i međućelijskom prostoru.

Senzorna svojstva

Brzina smrzavanja i način odmrzavanja utiču ($p < 0,05$) na promjenu senzornih svojstava (spoljašnji izgled, izgled presjeka, boja, miris, aroma i ukus i konzistencija) termički obrađenog mesa svinja, koje je prethodno bilo smrznuto različitim brzinama i skladišteno 30 dana i 60 dana na -20°C .

Uzorci svinjskog mesa koji su smrznuti brzim postupcima (1,10 cm/h, 1,25 cm/h, 1,43 cm/h) su imali veće prosječne ocjene za posmatrana senzorna svojstva nakon 30 dana i 60 dana skladištenja. Uzorci mesa odmrznuti kod sobne temperature su ocijenjeni najvišom ocjenom, zatim uzorci odmrznuti u frižideru, dok su uzorci odmrznuti u mikrotalasnoj pećnici imali najlošije ocijenjena senzorna svojstva.

Zaključak. Na osnovu predloženih rezultata istraživanja vidi se da je autor došao do pouzdanih i originalnih zaključaka, koji su proizašli iz eksperimenata sprovedenih tokom ispitivanja uticaja uslova smrzavanja na promjenu i ponašanje proteina u prehrambenim proizvodima.

Literatura. U pisanju ovog doktorskog rada autor je koristio 265 referenci, koje su na pravilan način citirane. Izbor referenci je aktuelan i primjeren tematici koja je proučavana.

3. Naučni doprinos

Naučni doprinos ove doktorske disertacije je višestruk. Istraživanja koja se odnose na proteine iz prehrambenih proizvoda imaju fundamentalni karakter. Prvo, uvedena je nova analitička metoda za identifikaciju i kvantitativno određivanje molekula proteina, kapilarna gel elektroforeza. Drugo, u različitim namirnicama je utvrđen udio više od 50 proteina i njihova relativna koncentracija. Treće, utvrđen je uticaj različitih tretmana (brzina smrzavanja, temperatura skladištenja, uslovi odmrzavanja) na promjenu proteina u prehrambenim proizvodima. Tokom ispitivanja praćene su hemijske i strukturne promjene miofibrilarnih proteina izolovanih iz uzoraka mesa svinja. Analizirani su procesi razgradnje miofibrilarnih proteina (HMM, troponin, desmin, protein C) i formiranje proteinskih struktura, koje ne postoje u prirodnim uzorcima (na primjer, protein mase 30 kDa). Pored toga, u disertaciji je analiziran uticaj postupaka tokom smrzavanja hrane na promjenu reoloških, fizičko-hemijskih i hemijskih svojstava, boje i senzornih svojstava hrane. Utvrđena je veza između navedenih svojstava i promjene strukture i svojstava proteina. Poseban naučni doprinos disertacije se odnosi na razvoj i praktičnu primjenu novih analitičkih metoda tokom hemijskih i biohemijskih ispitivanja hrane, te razvoj laboratorije za hemijska i tehnološka ispitivanja prehrambenih proizvoda.

S obzirom da se pravilno smrzavanje hrane i njeno skladištenje na odgovarajućoj temperaturi, smatraju najboljim načinom produženja trajnosti namirnica, rezultati dobijeni u ovoj disertaciji imaju praktičnu primjenu. Kandidat je preporučio najpovoljnije režime smrzavanja, skladištenja i odmrzavanja prehrambenih proizvoda biljnog i životinjskog porijekla. Na kraju, precizno definisane metode za utvrđenje optimalnih uslova smrzavanja različitih prehrambenih proizvoda imaju praktičnu primjenu.

4. Ocjena i zaključak

Predočena analiza doktorske disertacije mr Danice Savanović, diplomirang inženjera tehnologije, govori u prilog da su ispunjeni svi kriterijumi zahtjevani za kvalitetnu ocjenu doktorske disertacije. Dobijeni rezultati i diskusija rezultata, te zaključci dati na kraju rada slažu se sa obrazloženjem koje je dato u prijavi teze rada. Rad je jasno koncipiran, sažet i eksplicitan. Naučni doprinos i originalnost ovog rada ne proističu samo iz teorijskih objašnjenja problematike vezane za smrzavanje prehrambenih proizvoda i ponašanje proteina u smrznutoj hrani, nego i u njihovoj primjeni u kreiranju model sistema za sprovođenje planiranih istraživanja. Dobijeni rezultati su rezultat originalnog rada i oni su pravilno i naučno objašnjeni, pa ovaj doktorski rad predstavlja solidan doprinos naučnom radu u oblasti prehrambene tehnologije. Doktorska disertacija nema nedostataka koji bi uticali na njenu konačnu vrijednost.

Prema tome, Komisija pozitivno ocjenjuje urađeni doktorski rad kandidata **mr Danice Savanović**, pod naslovom “**Uticaj uslova smrzavanja na promjene i ponašanje proteina u prehrambenim proizvodima**” kao originalno naučno ostvarenje i jednoglasno predlaže Nastavno-naučnom vijeću Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Istočnom Sarajevu da prihvati ovu ocjenu i omogući kandidatu da doktorski rad pod navedenim naslovom javno brani.

U Zvorniku, 29.12.2016.

Članovi komisije:

1. Prof. dr Vladimir Tomović, predsjednik komisije

2. Prof. dr Radoslav Grujić, mentor i član

3. Prof. dr Aleksandra Torbica, član

4. Prof. dr Midhat Jašić, član

5. Doc dr Dragan Vujadinović, član
