

**UNIVERZITET U BEOGRADU  
FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE**

**Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla**

**Marija D. Bošković**

Doktor veterinarske medicine

**ISPITIVANJE UTICAJA ODABRANIH  
ETARSKIH ULJA NA RAST *Salmonella* spp. U  
MESU SVINJA PAKOVANOG U VAKUUM I  
MODIFIKOVANU ATMOSFERU**

**Doktorska disertacija**

**Beograd, 2016. godine**

**UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE**

**Department of Hygiene and Technology of Food of Animal Origin**

**Marija D. Bošković**

Doctor of veterinary medicine

**EFFECT OF ESSENTIAL OILS ON  
SURVIVAL OF *Salmonella* spp. IN PORK  
PACKAGED IN VACUUM AND MODIFIED  
ATMOSPHERE**

**PhD THESIS**

**Belgrade, 2016.**

## **MENTOR**

**Dr Milan Ž. Baltić**, redovni profesor

Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu  
Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla

## **ČLANOVI KOMISIJE**

**Dr Milan Ž. Baltić**, redovni profesor

Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu  
Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla

**Dr Vera Katić**, redovni profesor

Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu  
Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla

**Dr Neđeljko Karabasil**, vanredni profesor

Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu  
Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla

**Dr Marija Starčević**, naučni saradnik

Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu  
Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla

**Dr Vesna Đorđević**, naučni saradnik

Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd

**Datum odbrane doktorske disertacije**

.....

*Rezultati istraživanja ove doktorske disertacije deo su istraživanja u okviru projekta „Odabrane biološke opasnosti za bezbednost/kvalitet hrane animalnog porekla i kontrolne mere od farme do potrošaca“ (Ev. br. TR 31034). Ovaj projekat finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.*

Hvala...

Profesoru Milanu Ž. Baltiću,

zato što ste mi na ovom putu bili mentor i roditelj, što me nikada niste sputavali, što ste me usmeravali i učili, pažljivo slušali i podržavali, što mi nikada niste dozvolili da budem neko ko ne ume i ne može, što ste se trudili da svaku moju ideju sprovedete u delo, što mi nikada niste nametali svoju volju, što ste me pustili da postavljam nove granice i uz Vašu bezuslovnu podršku nadem svoj put.

Članovima komisije, prof. dr. Veri Katić za svaki razgovor i diskusiju, za vreme koje je odvojila da mi pomogne oko doktorske disertacije i korisnim sugestijama, prof. dr. Neđeljku Karabasilu i dr. Mariji Starčević na savetima i podršci, posebno dr. Vesni Đorđević na bezuslovnoj pomoći.

Mojim koleginicama Jeleni Ivanović, Jeleni Janjić, Jasni Đorđević, Milici Glišić, Nataši Glamočliji, Mariji Glišić, Tatjani Baltić i kolegama Branislavu Baltiću i Nemanji Zdravković, zato što ste mi bili oslonac prilikom izvođenja eksperimentalnog dela doktorske disertacije, naročito Jasni i Jelenama, zato što brinete o meni i uvek nalazite vreme da mi date korisne savete i pomognete kada je to potrebno.

Bojani, za sve dane i noći, vikende i praznike koje je uvek nasmejana i puna pozitivne energije provodila sa mnom na fakultetu tokom izvođenja ogleda, zato što mi je pomagala onda kada nisam sama sebi imala snage da pomognem.

Dušanu i Marku, za sve obeležene ploče, oprane pipete i epruvete, za svaki dan koji ste odvojili da budete uz mene, hvala vam što ste mi prijatelji.

Mojoj mami, Jeleni, tati, Živojinu i mojim prijateljima,

zato što ste uvek podržavali moje ambicije, što ste svaki moj uspeh doživljavali kao svoj, što ste me slušali, što ste bili uz mene tokom svih nepravdi i bolesti, što ste bili onda kada je bilo teško, jer kad je lako mogu i sama.

Svima onima koji su me razočarali i izneverili, zato što ste me spremili za ono što me čeka van korica ove doktorske disertacije, za sve ono što me čeka van granica nauke.

## Kratak sadržaj

I pored uloženih napora i dostignuća koja su ostvarena u prehrambenoj industriji na polju higijene klanja i proizvodne prakse, bakterije uzročnici bolesti prenosivih hranom u koje spada i *Salmonella* spp. kao jedan od najčešćih patogenih bakterija izolovanih iz mesa, i dalje uzrokuju milione slučajeva oboljenja godišnje na globalnom nivou, predstavljajući ne samo zdravstveni već i ekonomski problem, kako u razvijenim zemljama tako i zemljama u razvoju. *Salmonella Enteritidis* i *Salmonella Typhimurium* su serotipovi koji najčešće izazivaju salmonelozu ljudi, međutim sve se češće prijavljuju sliučajevi salmoneloze uzrokovane manje poznatim serotipovima, što naglašava potrebu za njihovom kontrolom. Iako se jaja i meso živine i dalje smatraju glavnim izvorom *Salmonella* spp., salmoneliza uzrokovana konzumiranjem kontaminiranog svinjskog mesa i proizvoda od svinjskog mesa je u porastu. Industrija mesa se suoči sa novim trendom organske proizvodnje, gde nema mesta za primenu do sada korišćenih hemijskih konzervanasa, od kojih neki ispoljavaju kancerogene i toksične osobine ili dovode do pojave alergija. Etarska ulja su biljni ekstrakti koji se izučavaju pre svega zbog antibakterijskih i antioksidativnih osobina ali i mogućnosti da se koriste kao zamena za sintetičke aditive u prehrambenoj industriji. Primena etarskih ulja može da smanji incidenciju bolesti prenosivih hranom, da produži održivost namirnica i odloži lipidnu oksidaciju. Etarsko ulje timijana i origana jedni su od deset najčešće korišćenih etarskih ulja za primenu u hrani.

Cilj istraživanja u okviru ove doktorske disertacije bio je ispitivanje različitih načina pakovanja (vakuum i modifikovana atmosfera) i antimikrobnog efekta različitih koncentracija etarskih ulja origana i timijana (0,3%, 0,6% i 0,9%), na *Salmonella* spp. i mikrobiološki status mesa, kao i ispitivanje antioksidativnih osobina pomenutih etarskih ulja i njihovog efekta na oksidativne promene lipidne frakcije, fizičko hemijske osobine i prihvatljivost mlevenog svinjskog mesa. Kao sirovina za ispitivanje korišćeno je mleveno meso mišića buta svinja meleza Jorkšira x Landrasa. Na početku eksperimenta ispitana je hemijski sastav etarskih ulja (GC-MS), antioksidanti potencijal etarskih ulja (DPPH test, kapacitet neutralizacije 'OH i NO' radikala FRAP test, lipidna peroksidacija) i minimalna inhibitorna koncentracija etarskih ulja timijana i origana, ali i aktivnih principa, eugenola, timola, karvakrola i cinamaldehida (mikrodilucionna metoda) potrebna za inhibiciju šest serovarijeteta *Salmonella* spp. (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. Givae*) i koktel serovarijeteta odabranog za kontaminaciju mesa (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Montevideo*). Mikrobiološka (*Enterobacteriaceae*, aerobne

mezofilne bakterije, bakterije mlečne kiseline-standardne ISO metode, *Salmonella* spp.- XLT4 agar), fizičko hemijska (hemijskog sastava mesa-ISO metode za vodu, proteine, masti i pepeo; sadržaja ukupnog isparljivog azota- metoda opisana po Goulash i Kontominas-u, 2005; kiselinski broj- ISO metoda; TBARS vrednost- kombinovana metoda Tarladgis i sar., 1964 i Holland, 1971; pH vrednost- pH metar "Testo 205"; merenje koncentracije gasova u modifikovanoj atmosferi- Oxybaby, Witt Gasetechnik) i senzorna ispitivanja izvedena su iz dva dela, prilikom čega je u prvom delu ispitivan uticaj etarskog ulja timijana, a u drugom delu ogleda uticaj etarskog ulja origana. U oba dela ogleda ukupna količina sirovog mlevenog mesa podeljena je na polovine. Jedna polovina je kontaminirana  $10^6$  koktelom *Salmonella* spp. Potom svaka kontaminirana i nekontaminirana polovina podeljena je na po četiri dela, od kojih u jedan deo nije dodato etarsko ulje, a u drugi, treći i četvrti deo je dodato 0,3%, 0,6% odnosno 0,9% etarskog ulja timijana, odnosno origana. Nakon toga svaka grupa je podeljena na još dva dela prilikom koga je polovina pakovana u vakuum, a plovina u modifikovanu atmosferu (30% O<sub>2</sub>/50% CO<sub>2</sub>/20% N<sub>2</sub>). Uzorci su skladišteni pri 3±1 °C i ispitivani svakog trećeg dana tokom petnaest dana (0.,3.,6.,9.,12.,15.).

Dobijeni razultati pokazuju da su najveći procenat etarskog ulja timijana činili timol (50,48%) i *p*-cimen (24,79%), zatim linalol (4,69%), 1,8-cineol (4,35%) i  $\gamma$ -terpinen (4,14%), a etarsko ulje origana karvakrol (77,16%), *p*-cimen (5,14%), *trans*- $\beta$ -kariofilen (2,45%), linalol (2,44%),  $\gamma$ -terpinen (2,35) i timol (2,11%), dok su druge komponente bile zastupljene u nižim koncentracijama. Etarsko ulja origana pokazalo je bolju sposobnost neutralizacije DPPH• radikala i bolju aktivnost i u pogledu „hvatanja“ NO•, dok je etarsko ulja timijana pokazalo je bolju aktivnost pri inhibiciji lipidne peroksidacije od etarskog ulja origana. Etarsko ulje origana je pokazalo dobru antimikrobnu aktivnost, inhibirajući rast testiranih *Salmonella* sa MIC vrednostima u opsegu 160-320 µg/ml, a etarsko ulje timijana nešto slabiju sa MIC vrednostima u opsegu 320-640 µg/ml. Od ispitivanih serovarijeteta najosetljivija na dejstvo etarskih ulja bila je *Salmonella* Typhimurium. Smanjenje broja bakterija *Salmonella* spp. (inicijalni broj u prvom i drugom delu ogleda bilo je 6,22 i 6,40 log cfu/g) zabeleženo je u svim grupama tokom ispitivanja, a bilo je značajnije niži kod uzoraka pakovanim u modifikovanoj atmosferi (pilikom ispitivanja etarskog ulja timijana i origana bilo je 4,88 i 4,92 log cfu/g) u odnosu na uzorke pakovane u vakuum (pilikom ispitivanja etarskog ulja timijana i origana bilo je 5,14 log cfu/g i 5,22 log cfu/g), kao i uzorke sa dodatim višim koncentracijama etarskih ulja (0,3%, 0,6% i 0,9% etarsko ulje timijana pakovano u modifikovanu atmosferu- 4,36, 4,06 i 2,11 log cfu/g i vakuum- 4,51, 4,19 i 2,32 cfu/g i 0,3%, 0,6% i 0,9% etarsko ulje origana pakovano u modifikovanu atmosferu- 4,02, 3,22 i <1 log

cfu/g i vakuum- 4,26, 3,55 i  $<1$  log cfu/g). Ukupan broj enterobakterija u nekontaminiranim uzorcima je opao na početku skladištenja u uzorcima u kojima su dodata etarska ulja i u tim uzorcima broj enterobakterija bio je niži u odnosu na broj enterobakterija u uzorcima bez dodatka etarskih ulja gde je broj enterobakterija rastao. U eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa broj enterobakterija opadao je prvih dana skladištenja da bi kasnije do kraja skladištenja rastao i najniži je bio u uzorcima mlevenog mesa sa dodatkom najviših koncentracija etarskih ulja. Broj enterobakterija, u zavisnosti od koncentracije dodatog etarskog ulja i načina pakovanja, na početku ispitivanja u delu ogleda tokom koga je ispitivano etarsko ulje timijana, kretao između 4,21 i 5,02 log cfu/g u nekontaminiranim uzorcima i između 6,05 i 6,31 log cfu/g u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima, dok se u delu ogleda tokom koga je ispitivano etarsko ulje origana kretao između 3,63 i 3,69 log cfu/g u nekontaminiranim i između 6,04 i 6,42 log cfu/g u kontaminiranim uzorcima, da bi na kraju perioda skladištenja u delu ogleda tokom koga je ispitivano etarsko ulje timijana broj enterobakterija bio između 4,11 i 5,62 log cfu/g u nekontaminiranim uzorcima i između 5,89 i 6,94 log cfu/g u eksperimentalno kontaminiranim, dok je u delu ogleda tokom koga je ispitivano etarsko ulje origana broj ovih bakterija bio između 3,50 i 4,84 log cfu/g u nekontaminiranim uzorcima i između 5,44 i 7,18 log cfu/g u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima.

Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija na početku ispitivanja u nekontamiranim uzorcima bio je između 5,17 i 5,21 log cfu/g u prvom delu ogleda i između 4,24 i 4,40 log cfu/g u drugom delu ogleda, rastao u skoro svim uzorcima tokom perioda skladištenja i bio niži u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu u odnosu na uzorke pakovane u vakuum, kao i u uzorcima u kojima su dodata etarska ulja u odnosu na uzorke bez dodatka etarskih ulja. Na kraju ispitivanja u nekontamiranim uzorcima broj aerobnih mezofilnih bakterija bio je između 6,02 i 8,03 log cfu/g u prvom delu ogleda i između 4,78 i 7,37 log cfu/g u drugom delu ogleda. U kontaminiranim uzorcima broj aerobnih mezofilnih bakterija opadao je na početku skladištenja (6,55 i 6,82 log cfu/g u prvom delu ogleda i 6,77 i 7 log cfu/g u drugom delu ogleda) u uzorcima u koja su dodata etarska ulja, dok je u kasnjem periodu skladištenja rastao, a u uzorcima bez dodatka etarskih ulja broj bakterija je rastao tokom celog perioda ispitivanja i u uzorcima. Na kraju perioda ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija u kontaminiranim uzorcima kretao se između 6,88 i 9 log cfu/g u prvom delu ogleda i između 6,20 i 9,21 log cfu/g u drugom delu ogleda.

Broj bakterija mlečne kiseline kod eksperimentalno kontaminiranih i nekontaminiranih uzoraka je rastao tokom perioda skladištenja i bio niži u uzorcima pakovanim u

modifikovanu atmosferu odnosu na uzorke pakovane u vakuum, kao i u uzorcima u kojima su dodata etarska ulja u odnosu na uzorke bez dodatka etarskih ulja. Broj bakterija mlečne kiseline bio je viši u kontaminiranim (u prvom delu ogleda- 4,20- 4,62 log cfu/g na početku i 6,41-7,37 log cfu/g na kraju ispitivanja; u drugom delu ogleda- 4,20- 4,45 log cfu/g na početku i 5,92-7,26 log cfu/g na kraju ispitivanja) u odnosu na nekontaminirane uzorke (u prvom delu ogleda- 4,14- 4,40 log cfu/g na početku i 4,98-7 log cfu/g na kraju ispitivanja; u drugom delu ogleda- 4,13- 4,26 log cfu/g na početku i 4,24-6,11 log cfu/g na kraju ispitivanja). pH vrednost svih uzoraka je opadala tokom perioda skladištenja i bila viša u uzorcima sa dodatkom etarskih ulja u odnosu na uzorke bez dodatka etarskih ulja.

Sadržaj ukupnog isparljivog azota u nekontaminiranim i eksperimentalno kontaminiranim uzorcima rastao je, a manji porast je zabeležen u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu u odnosu na uzorke pakovane u vakuum, kao i u uzorke sa dodatkom etarskih ulja u kojima nije prešao granicu prihvativosti na kraju perioda skladištenja u nekontaminiranim uzircima. Kiselinski broj i količina malondialdehida rasli su tokom perioda skladištenja, a bili su niži u uzorcima pakovanim u vakuum u odnosu na uzorke pakovane u modifikovanu atmosferu kao i u uzorcima u koja su dodata etarska ulja u odnosu na uzorke bez dodatka etarskih ulja. U pakovanju sa modifikovanom atmosferom količina ugljendioksida se smanjila najviše tokom prva tri dana dana skladištenja, da bi kasnije tokom skladištenja paralelno sa porastom broja bakterija doslo do smanjenja koncentracije kiseonika i porasta koncentracije ugljen-dioksida. Koncentracija ugljen-dioksida bila je niža u uzorcima sa dodatkom etarskog ulja i rasla sa smanjenjem dodata koncentracije etarskog ulja. Senzorna ocena prihvativosti mirisa bila je kod na početku i tokom prvih dana ispitivanja viša u uzorcima bez dodatka etarskog ulja. Tokom skladištenja miris uzoraka opadao se menjao u uzorcima bez etarskih ulja da bi na kraju skladištenja bili lošije ocenjeni, dok su uzorci sa dodatkom 0,3% etarskih ulja bili najbolje ocenjeni. Na početku skladištenja boja uzoraka bez dodatka etarskih ulja bila je bolje ocenjena, dok su na kraju perioda skladištenja u pogledu boje, bolje su bili ocenjeni uzorci sa dodatkom etarskog ulja i pakovani u modifikovanoj atmosferi.

**Ključne reči:** mleveno svinjsko meso, *Salmonella* spp, mikrobiološki status, timol, karvakrol, antioksidativne osobine etarskih ulja, MDA, TVN, pakovanja, odnos gasova

**Naučna oblast:** Veterinarska medicina

**Uža naučna oblast:** Higijena i tehnologija mesa

**UDK broj:** 579.67:637.5'64:665.3

## **Summary**

Despite efforts and improvements in slaughter hygiene and food production techniques in the food industry, foodborne pathogens including *Salmonella* spp as one of the most often pathogen found in meat, still cause millions of episodes of illness annually worldwide, presenting not only health but also an economic problem in both developed and developing countries. *Salmonella Enteritidis* and *Salmonella Typhimurium* are serotypes mainly reported as causes of human salmonellosis, but outbreaks of salmonellosis caused by a rarer subspecies of *Salmonella* are increasing, which is why their control is needed. Eggs and poultry meat are still recognized as main sources of *Salmonella* infection in humans but salmonellosis caused by consuming contaminated pork meat and derived products are increasing. Moreover, the meat industry is challenged by the new trend of producing all-natural food, where is no place for artificial preservatives which may have some carcinogenic and toxic properties or may cause food allergies or sensitivities. Essential oils (EOs) are plants derived which gained attention mainly due to its antibacterial and antioxidative properties, and potential to be used as a replace for synthetic additives in the food industry. EOs can reduce the incidence of food-borne diseases, extend shelf-life and retard lipid oxidation. Thyme and oregano EO are one of the top ten EOs used as a preservative for food purposes.

The aim of this PhD thesis was to evaluate the effect of different packaging conditions (vacuum and modified atmosphere) and different concentrations (0.3%, 0.6% and 0.9%) of thyme and oregano essential oils on survival of *Salmonella* spp., microbiological status of pork meat, as well as antioxidative properties if essential oils and their effect on lipid oxidation in meat, physicochemical parameters and organoleptic acceptability of meat.

Meat used in present study was obtained from pork muscles from legs of different animals, crossbreeds Yorkshire x Landrace and minced in a grinder with 4 mm perforations in the grinding plates. At the beginning of the experiment chemical composition of EOs was determined (GC-MS analysis), as well as antioxidative capacity of EOs (DPPH test, nitric oxide and hydroxyl-radical scavenger capacity, FRAP assay, lipid peroxidation) and minimal inhibitory concentration (MIC) of EOs and active compounds e.g. thymol, carvacrol, eugenol and cinnamaldehyde (microdilution method) needed to inhibit the grow of six serotypes of *Salmonella* spp. (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. Givae*) and the four-strain cocktail of *Salmonella* chosen to be used in meat contamination (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Montevideo*).

Microbiological analysis (*Enterobacteriaceae*, aerobic mesophilic bacteria, lactic acid bacteria- Standard ISO methods, *Salmonella* spp.-XLT4 agar), physicochemical analysis (Chemical composition of meat- Standard ISO methods for water, protein, fat and ash content determination; total volatile nitrogen- method described by Goulash i Kontominas, 2005; Acidity value- Standard ISO method; TBARS – method described by Tarladgis et al., 1964 and Holland, 1971; pH value- pH meter "Testo 205"; headspace gas composition - Oxybaby, Witt Gasetechnik) and sensory evaluation were conducted were carried out in two parts, in which the first part examines the effect thyme EO, and in the second part of the experiment the impact of oregano EO was examined.

In the first part of the experiment, minced pork meat was divided into halves. Half of the minced meat was contaminated with  $10^6$  four-strain cocktail of *Salmonella*. Then, both contaminated and no contaminated halves were divided into four equal parts. Thyme EO in different concentration, 0.3%, 0.6% and 0.9%, respectively was added in first, second and third part, while in fourth part EO was not added. Then all meat samples were divided into two parts and packaged under vacuum and modified atmosphere and (30% O<sub>2</sub>/50% CO<sub>2</sub>/20% N<sub>2</sub>). The same procedure was repeated in the second part of the experiment, but instead of thyme, oregano EO was used. Samples of minced meat were stored at 3±1 °C and examined every third day during 15 days period (on the first, 3<sup>rd</sup>, 6<sup>th</sup>, 9<sup>th</sup>, 12<sup>th</sup> and 15<sup>th</sup> day).

Results showed that the major components thyme EO were thymol (50.48%) and p-cymene (24.79%) followed by linalool (4.69%),  $\gamma$ -terpinene (4.14%) and 1,8-cineole (4.35%), while dominant components in oregano EO were carvacrol (77.6%) and p-cymene (5.14%), followed by *trans*- $\beta$ -caryophyllene (2.45%), linalool (2.44%),  $\gamma$ -terpinene (2.35%) and thymol (2.11%), while other compounds were presented in lower concentrations. The higher capacity to reduce DPPH and the higher OH radical scavenging activity was observed in oregano EO compared to thyme EO, while thyme EO expressed better ability to inhibit the peroxidation of PUFA in linseed oil. The oregano EO exhibited good antibacterial activity and the MIC of oregano EO for *Salmonella* spp ranged from 160-320  $\mu$ l/ml, while thyme EO showed weaker antibacterial activity with MIC between 320-640  $\mu$ g/ml. *Salmonella* Typhimurium was the most sensitive serotype.

*Salmonella* spp decrease (initial number of *Salmonella* spp was 6.22 in the first part and 6.40 log cfu/g in the second part of the experiment) was observed in all groups of experimentally contaminated samples of minced meat during storage. Significantly lower number of *Salmonella* spp was reported in the samples packaged under modified atmosphere (4.88 log cfu/g when TEO was used and 4.92 log cfu/g in the second part of experiment when OEO

was used) compared to the vacuum packaged samples (5.14 log cfu/g when TEO was used and 5.22 log cfu/g in the second part of experiment when OEO was used), and in the samples with addition of higher EO concentrations (samples with 0.3%, 0.6% and 0.9% of TEO packaged under MAP – 4.36, 4.06 i 2.11 log cfu/g and vacuum- 4.51, 4.19 i 2.32 cfu/g; samples with 0.3%, 0.6% and 0.9% OEO packaged under MAP – 4.02, 3.22 and <1 log cfu/g and under vacuum- 4.26, 3.55 and <1 log cfu/g).

The number of *Enterobacteriaceae* in noncontaminated samples was reduced at the beginning of the experiment in the samples with addition of EOs, and a number of these bacteria remain lower during storage period compare to samples without addition of EOs, where the number of *Enterobacteriaceae* increased. In experimentally contaminated meat samples, the number of *Enterobacteriaceae* decreased during first few days of examination and increase in the later stages of storage. A number of these bacteria was the lowest in samples where the highest concentration of EOs was added. Number of *Enterobacteriaceae*, depending on concentration of EOs added and packaging conditions was 4.21-5.02 log cfu/g in noncontaminated samples and 6.05-6.31 log cfu/g in experimentally contaminated samples in the first part of experiment, while in the second part of experiment in which effect of OEO was evaluated number of *Enterobacteriaceae* was 3.63- 3.69 log cfu/g in noncontaminated samples and 6.04-6.42 log cfu/g in experimentally contaminated samples. At the end of the storage in the first part of experiment where TEO was evaluated number of Enterobacteriaceae was 4.11-5.62 log cfu/g in noncontaminated samples and 5.89-6.94 log cfu/g g in experimentally contaminated samples, dok while in the second part of experiment number of these bacteria 3.50-4.84 log cfu/g in noncontaminated samples and 5.44-7.18 log cfu/g in experimentally contaminated samples.

The number of aerobic mesophilic bacteria in noncontaminated samples at the beginning of the experiment was 5.17-5.21 log cfu/g in the first part of experiment which was carried out to observe the effect of TEO and 4.24- 4.40 log cfu/g in the first part of experiment which was carried out to observe the effect of OEO. The number of aerobic mesophilic bacteria increased in almost all samples during storage, and was lower in the samples packaged under MAP, and in samples with EOs added compared to those without EOs. At the beginning of the experiment number of aerobic mesophilic bacteria in noncontaminated samples was 6.02-8.03 log cfu/g in the first part of the experiment and 4.78-7.37 log cfu/g in the second part. The number of aerobic mesophilic bacteria was reduced at the beginning of the experiment (6.55 and 6.82 log cfu/g in first part of experiment and 6.77- 7 log cfu/g in the second part of the experiment) in experimentally contaminated samples with EOs addition and increased

during later stages of storage, while in the samples without addition of EOs these bacteria increased during all storage period. In noncontaminated samples at the end of experiment number of aerobic mesophilic bacteria was 6.88- 9 log cfu/g in the first part of the experiment and 6.20- 9.21 log cfu/g at the end of the second part of the experiment.

The number of lactic acid bacteria (LAB) in experimentally contaminated and noncontaminated samples increased during storage and was lower in the samples packaged under MAP than in samples packaged under vacuum, and in the samples with addition of EOs than in samples without EOs. LAB count was lower in experimentally contaminated samples (first part of experiment- 4.20- 4.62 log cfu/g at the beginning and 6.41-7.37 log cfu/g at the end; second part of experiment – 4.20- 4.45 log cfu/g at the beginning and 5.92- 7.26 log cfu/g at the end of storage) compared to noncontaminated samples (first part of experiment – 4.14- 4.40 log cfu/g at the beginning and 4.98-7 log cfu/g at the end; second part of experiment- 4.13- 4.26 log cfu/g at the beginning and 4.24-6.11 log cfu/g at the end of storage).

pH value of all samples decreased during storage period and was higher in samples with a higher concentration of EOs added. The content of total volatile nitrogen (TVN) in both, noncontaminated and experimentally contaminated meat samples increased during the time, and TVN content was lower in the samples packaged under MAP and in the samples with addition of EOs. At the end of experiment TVN level did not exceed acceptability limit in the noncontaminated samples with EOs addition.

In general, acidity value and TBARS increased during storage period with un exception in some samples in which TBARS decreased at the end of the storage. Vacuum packaged samples had lower oxidation rate than those packaged under modified atmosphere. TBARS and acidity value decreased as the added concentration of the EO increased.

The decreased of CO<sub>2</sub> level in modified atmosphere packaging was the most pronounced during the first tree days of storage and increased later during last days of storage in correlation with bacteria grow while the concentration of oxygen decreased during the storage period. The level of CO<sub>2</sub> were lower in the MAP samples with addition of EOs and the decrease was greater as added EOs concentration increased.

At the beginning of the storage period and during first days of examination, samples treated with EOs had lower scores in the term of smell than samples without EOs. During storage meat samples without EOs addition developed unpleasant odour and had lower scores, while samples with addition of EOs in the concentration of 0.3% were the most acceptable at the end of storage. At the beginning of experiment colour of the meat samples without EOs was

better evaluated, but at the end of experiment samples packaged under MAP and with the addition of EOs had higher scores.

**Key words:** minced pork, *Salmonella* spp, microbiological status, thymol, carvacrol, antioxidative capacity of essential oils, MDA, TVN, packaging, headspace gas composition

**Scientific field:** Veterinary Medicine

**Field of academic expertise:** Meat Hygiene and Technology

**UDK number:** 579.67:637.5'64:665.3

## Sadržaj

<b>1. Uvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Pregled literature.....</b>	<b>3</b>
<b>    2.1. <i>Salmonella</i> spp.....</b>	<b>3</b>
<b>        2.1.1. Istorijski aspekt, nomenklatura i taksonomija <i>Salmonella</i> spp.....</b>	<b>3</b>
<b>        2.1.2. Karakteristike <i>Salmonella</i> spp.....</b>	<b>7</b>
<b>        2.1.3. Faktori koji utiču na rast i preživljavanje <i>Salmonella</i> spp.....</b>	<b>8</b>
<b>        2.1.4. Značaj <i>Salmonella</i> spp. kao uzročnika bolesti prenosivih hranom.....</b>	<b>9</b>
<b>        2.1.5. Incidencija salmoneloze.....</b>	<b>9</b>
<b>        2.1.6. Hrana kao izvor <i>Salmonella</i> spp.....</b>	<b>13</b>
<b>        2.1.7. Meso sa posebnim osvrtom na svinjsko meso kao izvorom <i>Salmonella</i> spp.....</b>	<b>13</b>
<b>        2.1.8. Druge namirnice kao izvor <i>Salmonella</i> spp.....</b>	<b>15</b>
<b>        2.1.9. Patogeneza salmoneloze.....</b>	<b>17</b>
<b>        2.1.10. Klinička slika i kliconoštvo.....</b>	<b>18</b>
<b>        2.1.11. Lečenje infekcije.....</b>	<b>20</b>
<b>        2.1.12. Rezistencija <i>Salmonella</i> spp. na antibiotike.....</b>	<b>21</b>
<b>        2.1.13. Kontrola i prevencija pojave salmoneloze.....</b>	<b>22</b>
<b>            2.1.13.1. Kontrola i prevencija <i>Salmonella</i> spp. u primarnoj proizvodnji                 svinjskog mesa.....</b>	<b>22</b>
<b>            2.1.13.2. Kontrola <i>Salmonella</i> spp. na farmi svinja.....</b>	<b>22</b>
<b>            2.1.13.3. Kontrola <i>Salmonella</i> spp. prilikom transporta svinja u klanici.....</b>	<b>24</b>
<b>            2.1.13.4. Kontrola <i>Salmonella</i> spp. u mesu i proizvodima od mesa.....</b>	<b>26</b>
<b>    2.2. Svinjsko meso.....</b>	<b>29</b>

<b>2.2.1. Proizvodnja svinjskog mesa.....</b>	<b>29</b>
<b>2.2.2. Hemijski sastav svinjskog mesa i značaj svinjskog mesa u ishrani ljudi.....</b>	<b>29</b>
<b>2.2.2.1. Proteini.....</b>	<b>30</b>
<b>2.2.2.2. Masti.....</b>	<b>30</b>
<b>2.2.2.3. Vitamini i minerali.....</b>	<b>32</b>
<b>2.2.3. pH vrednost mesa.....</b>	<b>32</b>
<b>2.2.4. Koncentracija ukupnog isparljivog azota kao indikator svežine mesa.....</b>	<b>33</b>
<b>2.2.5. Kvar mesa.....</b>	<b>34</b>
<b>2.2.5.1. Mikrobiološki kvar mesa.....</b>	<b>34</b>
<b>2.2.5.2. Kvar kao posledica oksidacionih procesa.....</b>	<b>35</b>
<b>2.2.5.3. Kvar kao posledica autolitičkih procesa.....</b>	<b>37</b>
<b>2.2.6. Svinjsko meso kao izvor bioloških opasnosti.....</b>	<b>37</b>
<b>2.3. Pakovanje mesa i proizvoda od mesa.....</b>	<b>38</b>
<b>2.3.1. Pakovanje mesa u vakuum.....</b>	<b>38</b>
<b>2.3.2. Pakovanje mesa u modifikovanu atmosferu.....</b>	<b>39</b>
<b>2.3.2.1. Gasovi koji se koriste u modifikovanoj atmosferi i njihova uloga.....</b>	<b>40</b>
<b>2.3.2.2. Odnos zapremine gasova i proizvoda i materijali za pakovanje.....</b>	<b>41</b>
<b>2.3.3. Uticaj načina pakovanja na kvalitet i bezbednost mesa i proizvoda od mesa.</b>	<b>42</b>
<b>2.3.4. Uticaj načina pakovanja na boju mesa i proizvoda od mesa.....</b>	<b>43</b>
<b>2.3.5. Uticaj načina pakovanja na oksidativne promene u mesu i proizvodima od mesa.....</b>	<b>44</b>
<b>2.3.6. Uticaj načina pakovanja na količinu i sposobnost vezivanja vode u mesu i proizvodima od mesa.....</b>	<b>45</b>

<b>2.3.7. Uticaj načina pakovanja na bakterije kvara i patogene bakterije u mesu i proizvodima od mesa.....</b>	<b>46</b>
<b>2.3.8. Aktivna, inteligentna pakovanja i primena novih tehnologija u sistemima pakovanja mesa i proizvoda od mesa.....</b>	<b>48</b>
<b>2.4. Etarska ulja.....</b>	<b>51</b>
<b>    2.4.1. Ekstrakcija i skladištenje etarskih ulja.....</b>	<b>51</b>
<b>    2.4.2. Hemski sastav etarskih ulja.....</b>	<b>52</b>
<b>    2.4.3. Biološka aktivnost etarskih ulja.....</b>	<b>54</b>
<b>    2.4.4. Upotreba etarskih ulja u mesu i proizvodima od mesa.....</b>	<b>57</b>
<b>    2.4.5. Bezbednosni aspekt upotrebe etarskih ulja.....</b>	<b>59</b>
<b>3. Cilj i zadaci istraživanja.....</b>	<b>61</b>
<b>4. Materijal i metode.....</b>	<b>63</b>
<b>    4.1. Materijal.....</b>	<b>63</b>
<b>        4.1.1. Etarska ulja i aktivne komponente.....</b>	<b>63</b>
<b>        4.1.2. Meso.....</b>	<b>63</b>
<b>        4.1.3. Sojevi <i>Salmonella</i> spp.....</b>	<b>63</b>
<b>        4.1.4. Plan eksperimenta.....</b>	<b>63</b>
<b>    4.2. Metode.....</b>	<b>67</b>
<b>        4.2.1. Ispitivanje etarskih ulja.....</b>	<b>67</b>
<b>            4.2.1.1. GC-MS analiza hemijskog sastava etarskih ulja.....</b>	<b>67</b>
<b>            4.2.1.2. Spektrofotometrijske analize- Antioksidantna aktivnost etarskih ulja.....</b>	<b>68</b>
<b>                4.2.1.2.a Kapacitet neutralizacije 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala (DPPH test).....</b>	<b>69</b>

<b>4.2.1.2.b Kapacitet neutralizacije NO<sup>•</sup> radikala .....</b>	<b>70</b>
<b>4.2.1.2.c Kapacitet neutralizacije hidroksil radikala.....</b>	<b>71</b>
<b>4.2.1.2.d Inhibicija lipidne peroksidacije.....</b>	<b>72</b>
<b>4.2.1.2.e FRAP test.....</b>	<b>74</b>
<b>4.2.2. Mikrobiološke analize.....</b>	<b>75</b>
<b>4.2.2.1. Određivanje minimalne inhibitorne koncentracije.....</b>	<b>75</b>
<b>4.2.2.2. Određivanje broja <i>Salmonella</i> spp. u inokulisanim uzorcima.....</b>	<b>76</b>
<b>4.2.2.3. Određivanje ukupnog broja enterobakterija.....</b>	<b>77</b>
<b>4.2.2.4. Određivanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija.....</b>	<b>77</b>
<b>4.2.2.5. Određivanje broja bakterija mlečne kiseline.....</b>	<b>78</b>
<b>4.2.3. Hemijske i fizičko- hemijske analize.....</b>	<b>78</b>
<b>4.2.3.1. Određivanje osnovnog hemijskog sastava mesa.....</b>	<b>78</b>
<b>4.2.3.1.a Određivanje sadržaja vode.....</b>	<b>78</b>
<b>4.2.3.1.b Određivanje sadržaja pepela.....</b>	<b>78</b>
<b>4.2.3.1.c Određivanje sadržaja proteina.....</b>	<b>79</b>
<b>4.2.3.1.d Određivanje sadržaja slobodne masti.....</b>	<b>79</b>
<b>4.2.3.2. Određivanje sadržaja ukupnog isparljivog azota (TVB-N).....</b>	<b>79</b>
<b>4.2.3.3. Određivanje kiselinskog broja.....</b>	<b>80</b>
<b>4.2.3.4. Određivanje TBARS vrednosti.....</b>	<b>81</b>
<b>4.2.3.5. Određivanje pH vrednosti.....</b>	<b>81</b>
<b>4.2.3.6. Praćenje sastava atmosfere unutar pakovanja mlevenog mesa.....</b>	<b>81</b>
<b>4.2.4. Senzorna ocena uzoraka mlevenog mesa.....</b>	<b>82</b>
<b>4.2.5. Statistička analiza podataka.....</b>	<b>82</b>

<b>5. Rezultati ispitivanja.....</b>	<b>83</b>
<b>    5.1. Hemijski sastav etarskih ulja.....</b>	<b>83</b>
<b>5.1.1. Hemijski sastav etarskog ulja timijana.....</b>	<b>83</b>
<b>5.1.2. Hemijski sastav etarskog ulja origana.....</b>	<b>86</b>
<b>    5.2. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja.....</b>	<b>89</b>
<b>    5.3. Antoksidativna aktivnost etarskih ulja.....</b>	<b>90</b>
<b>    5.4. Hemijski sastav mesa.....</b>	<b>91</b>
<b>    5.5. Mikrobiološki status mlevenog mesa.....</b>	<b>92</b>
<b>5.5.1. Broj <i>Salmonella</i> spp.....</b>	<b>92</b>
<b>5.5.2. Broj enterobakterija.....</b>	<b>100</b>
<b>5.5.3. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija.....</b>	<b>114</b>
<b>5.5.4. Broj bakterija mlečne kiseline.....</b>	<b>126</b>
<b>    5.6. pH vrednost.....</b>	<b>138</b>
<b>    5.7. Sadržaj ukupnog isparljivog azota.....</b>	<b>150</b>
<b>    5.8. Oksidativne promene u mesu.....</b>	<b>162</b>
<b>5.8.1. Lipoliza.....</b>	<b>162</b>
<b>5.8.2. Sadržaj malondialdehida (TKB vrednost).....</b>	<b>170</b>
<b>    5.9. Promena koncentracije gasova u modifikovanoj atmosferi.....</b>	<b>178</b>
<b>    5.10. Senzorne osobine.....</b>	<b>180</b>
<b>6. Diskusija.....</b>	<b>183</b>
<b>    6.1. Hemijski sastav etarskih ulja.....</b>	<b>183</b>
<b>    6.2. Antioksidativna aktivnost etarskog ulja timijana.....</b>	<b>185</b>
<b>    6.3. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja.....</b>	<b>187</b>

<b>6.4. Hemijski sastav mesa.....</b>	<b>190</b>
<b>6.5. Broj bakterija.....</b>	<b>192</b>
<b>6.5.1. Broj <i>Salmonella</i> spp. u mlevenom mesu.....</b>	<b>192</b>
<b>6.5.2. Broj enterobakterija u mlevenom mesu.....</b>	<b>199</b>
<b>6.5.3. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija.....</b>	<b>206</b>
<b>6.5.4. Broj bakterija mlečne kiseline.....</b>	<b>212</b>
<b>6.6. Promena pH vrednosti.....</b>	<b>217</b>
<b>6.7. Promena ukupnog isparljivog azota.....</b>	<b>222</b>
<b>6.8. Oksidativne promene u mesu.....</b>	<b>226</b>
<b>6.8.1. Lipolitičke promene u mesu.....</b>	<b>226</b>
<b>6.8.2. Oksidacija lipida u mesu.....</b>	<b>228</b>
<b>6.9. Promena odnosa gasova u pakovanju.....</b>	<b>233</b>
<b>6.10. Senzorna ocena.....</b>	<b>236</b>
<b>7. Zaključci.....</b>	<b>239</b>
<b>8. Spisak literature.....</b>	<b>242</b>
<b>9. Prilozi.....</b>	<b>292</b>
<b>Prilog A.....</b>	<b>292</b>
<b>Prilog B.....</b>	<b>297</b>
<b>Prilog C.....</b>	<b>298</b>
<b>Prilog D.....</b>	<b>306</b>
<b>Prilog E.....</b>	<b>322</b>
<b>Prilog F.....</b>	<b>338</b>
<b>Prilog G.....</b>	<b>354</b>

<b>Prilog H.....</b>	<b>370</b>
<b>Prilog I.....</b>	<b>386</b>
<b>Prilog J.....</b>	<b>402</b>

## **1. UVOD**

Tokom evolucije upotreba mesa, pre svega crvenog mesa u ishrani doprinela je razvoju gastrointestinalnog trakta, imala je ključnu ulogu u razvoju kranio-dentalnih karakteristika, stava tela i drugih osobina koje su uticale na odvajanje čoveka od drugih hominida i od tada predstavlja značajan izvor makro i mikro nutritijenata esencijalnih za optimalan rast i razviće. U crveno meso spada i svinjsko meso koje i pored toga što se u nekim regionima ne konzumira iz kulturoloških i religioznih razloga, predstavlja vrstu mesa koja se najviše koristi u ishrani, odnosno beleži najveću potrošnju na globalnom nivou. Osim što je značajan izvor biološki visoko vrednih proteina, masti, vitamina, pre svega vitamina B kompleksa, mineralnih materija, naročito gvožđa i cinka, svinjsko, kao i druge vrste mesa predstavlja i pogodnu sredinu za razvoj mikroorganizama, naročito bakterija izazivača bolesti prenosivih hranom (*Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, enterohemoragična *Escherichia coli* i *Campylobacter* spp.).

Salmoneloza je nakon kampilobakterioze drugo po učestalosti oboljenje nastalo kao posledica unosa bakterija izazivača oboljenja prenosivih hranom. I pored višedecenijskih istraživanja, uloženih napora u njihovoj kontoli, poboljšanja higijene procesa proizvodnje, preduzetih mera suzbijanja i prevencije, konstantnog monitoringa, *Salmonella* spp. i dalje predstavljaju uzrok miliona oboljenja godišnje na globalnom nivou, koji se kod imunokompromitovane populacije ili u slučaju komplikacija mogu završiti letalno. Nažalost broj slučajeva salmoneloze je dosta veći nego onaj koji je prijavljen, a uzrok ove pojave je neprijavljinjanje trovanja koja brzo prolaze bez opasnijih kliničkih simptoma, nedostatak laboratorijski potvrđenih nalaz o infektivnom agensu uzročnika bolesti, a broj slučajeva u kojima postoji evidencija o vrsti namirnica koja je bila put prenosa infektivnog agensa je beznačajan, što ukazuje na nedostatke u zdravstvenom sistemu, ali i svesti potrošača. Kao najčešće prijavljeni serovarijeteti pominju se *Salmonella Enteritidis* i *Salmonella Typhimurium*, ali incidencija oboljenja uzrokovanih *Salmonella Infantis* je u porastu. Iako se živinsko meso i jaja smatraju najvažnijim izvorom ove patogene bakterije, ishrana kontaminiranim svinjskim mesom i proizvodima od svinjskog mesa se sve češće pominje kao uzrok nastanka infekcije.

S bezbednosnog aspekta, problem ne predstavljaju samo patogeni mikroorganizmi već i mikroorganizmi kvara, za koje meso predstavlja idealan medijum za rast i razmnožavanje. Kvar mesa se može javiti i kao posledica oksidativnih procesa, a svinjsko meso je zbog viših količina masti podložnije oksidativnim procesima. Jedinjenja koja nastaju kao posledica bakterijske aktivnosti ili oksidativnih procesa dovode do stvaranja neprijatnih mirisa i ukusa,

diskoloracije, eksudacije, smanjenja nutritivne vrednosti, a samim tim i kvaliteta, ograničavaju održivost i dovode do akumulacije toksičnih jedinjenja. Prisustvo patogenih mikroorganizama, kao i kvar mesa ne predstavlja samo zdravstveni već i ekonomski problem. Paralelno sa povećanim zahtevima s aspekta proizvodne higijene i bezbednosti mesa i proizvoda od mesa, ali i ekonomičnosti, industrija pakovanja hrane se brzo razvija trudeći se da zadovolji ova očekivanja. Pakovanje svake vrste hrane predstavlja svojevrstan izazov, pa ni sa mesom nije drugačiji slučaj. Meso i proizvodi od mesa se pakuju u vakuum ili modifikovanu atmosferu da bi se sprečila njihova kontaminacija iz spoljašnje sredine, sprečio rast potencijalno prisutnih patogenih mikroorganizama, kao i mikroorganizama koji izazivaju kvar i prevenirale fizičke i hemijske promene. Prehrambena industrija je razvila veliki broj fizičkih i hemijskih metoda za konzervisanje hrana, ali se i dalje svakodnevno suočava ne samo sa problemima patogenih mikroorganizama i kvara već i sa potrebama potrošača, koji sve više teže vraćaju prirodi i zdravoj ishrani. To predstavlja rastući problem u proizvodnji mesa i proizvoda od mesa pre svaga zbog kancerogenog, teratogenog i mutagenog efekta koje imaju neki hemijskih aditivi i konzervansi. Nadalje upotreba soli i pored veoma značajne uloge u stvaranju senzornih i strukturnih osobina proizvoda od mesa, povezana je sa pojavom hipertenzije i povećanim rizikom od kardiovaskularnih i bubrežnih oboljenja, zbog čega redukovanje koncentracije dodate soli predstavlja potrebu, ali i izazov za industriju mesa. S druge strane redukovanje koncentracije dodate soli ispod uobičajeno korišćenih, omogućava rast mikroorganizama kvara, što dovodi do smanjenja održivosti proizvoda, koji kao takav predstavlja rizik po zdravlje potrošača.

Kao rezultat svega navedenog javlja se potreba za novim antimikrobnim sredstvima koja mogu da se dodaju u meso ili proizvode od mesa u cilju inhibicije patogenih bakterija i mikroorganizama kvara, a da pritom predstavljaju prirodnu alternativu korišćenim konzervansima i ne dovode do pojave rezistencije bakterija. Jedna od mogućih alternativa je upotreba etarskih ulja koja predstavljaju aromatične tečnosti uljane konzistencije koje se različitim metodama ekstrahuju iz skoro svih delova biljaka. Dokazano je da etarska ulja, u različitom stepenu, poseduju antimikrobnu i antioksidativnu aktivnost. Etarska ulja imaju sposobnosti da odlože ili preveniraju oksidativne procese i ihibišu rast patogenih, ali i mikroorganizama kvara, utičući na taj način na kvalitet i održivost mesa i stvaranja bezbednijeg proizvoda, zbog čega se veliki broj istraživanja sprovodi u cilju pronalaženja odgovarajućih načina implementacije etarskih ulja u proizvodnju namirnica, uključujući i meso.

## **2. PREGLED LITERATURE**

### **2.1. *Salmonella* spp.**

#### **2.1.1. Istoriski aspekt, nomenklatura i taksonomija *Salmonella* spp.**

Prvi podatak o *Salmonella* spp. je opis tifoidne groznice koja predstavlja najozbiljniji oblik oboljenja izazvanog ovim bakterijama. Francuski doktor Bretonneau, koji se smatra i osnivačem doktrine o etiološkom aspektu bolesti, je tokom svog života objavio jednu studiju o tifusu („dothinenterie“) 1829. godine, ali njegovi potomci su njegova istraživanja prikazali 1922. godine. Engleski doktor William Budd je 1856. godine došao do zaključka da je svaki slučaj ovog oboljenja povezan sa prethodnim i da se „specifični toksin“ širi među pacijentima putem fecesa. Svoju tvrdnju je potkreplio dokazima da kada se ekskreti obolelih tretiraju hlorisanim krečom incidencija pojave oboljenja se smanjuje. Uzročnika tifusa prvi put su opisali nemački bakteriolozi Eberth i Koch 1880. godine a četiri godine kasnije Georg Gaffky je uspeo da kultiviše ovu bakteriju (Adams i Moss, 2007). Gartner je 1888. godine laboratorijski potvrdio epidemiju salmoneloze prilikom koje je obolelo 58 osoba iz 25 različitih porodica, a jedna umrla. Došlo se do podataka da su svi su jeli goveđe meso, pa se ovo smatra prvim slučajem kada je *Salmonella* spp.. zabeležena kao trovač hrane (Cliver i sar., 2011). Uzročnika paratifoidne groznice izolovali su Achard i Bensaud 1896. godine, a 1901. godine Schottmuller je serološki i kulturološki utvrdio razliku između uzročnika tifoidne i paratifoidne groznice (Adams i Moss, 2007).

*Salmonella* je izolovana 1884. godine kada je mladi naučnik, veterinar, Theodore Smith, radeći u Zavodu animalne industrije, odsek agrikulture, SAD, izlovao bakteriju iz creva svinje uginule od kolere (Smith 1894; Evangelopoulou i sar., 2010). Smith-ov mentor i rukovodilac Zavoda bio je priznati veterinar dr. Daniel Elmer Salmon, koji se smatra pionirom u kontroli zaraznih bolesti (Evangelopoulou i sar., 2010). Ovaj mikroorganizam nazvan je *Bacillus choleraesuis*, ali mu je francuski bakteriolog, Lignieres 1900. godine promenio ime u *Salmonella choleraesuis* u čast doktora Salmoda (Su i Chiu, 2007). Iste godine Lignieres je uvrstio *Salmonella choleraesuis* u grupu Gram negativnih bakterija zajedno sa *Bacillus typhi-murium*, *Bacillus typhi*, *Bacterium paratyphi*, *Bacillus enteritidis* i *Bacillus cholerae-suis* (Brown 1935; Evangelopoulou i sar., 2010). Prvi kongres međunarodnog društva za mikrobiologiju (International Society for Microbiology) održan je 1930. godine a ubrzo nakon toga Komitet za nomenklaturu je formirao podkomitet koji je bio zadužen za taksonomiju i nomenklaturu roda *Salmonella*. Među članovima podkomiteta bio

je i dr Kauffmann iz Danske, koji se danas smatra "ocem" velikog broja serotipova *Salmonella* (Evangelopoulou i sar., 2010). Podkomitet je 1934. godine objavio prvu zvaničnu listu sa odobrenim imenima *Salmonella*. Osnova za nomenklaturu salmonela bila je Kauffmann-ova šema za serološku tipizaciju na osnovu prisustva ili odsustva O (somatskog) i H (flagelarnog) antiga, koja se zasnivala na principu da svaki serovarijetet predstavlja posebnu vrstu (Kauffmann, 1966; Evangelopoulou i sar., 2010). U skladu sa ovim konceptom salmonele su dobijale nazive prema simptomima koje izazivaju, životinjske vrste kod koje izaziva oboljenje ili geografskom poreklu, a ovi fenotipski i antigenski različiti izolati su dobijali status vrste (Evangelopoulou i sar., 2010). Kao posledica otkrivanja novih serovarijeteta *Salmonella* postalo je konfuzno i nepraktično klasifikovati ih na tadašnji način, pa su Borman i sar. 1944. godine predložili koncept više vrsta u okviru kojih bi se ostale salmonele svrstale u grupe (Evangelopoulou i sar., 2010). U skladu sa ovim predlogom postojale bi tri vrste salmonela: *S. choleraesuis*, *Salmonella typhosa* i *Salmonella kauffmannii* u koju bi se svrstali svi serovarijeteti koje je otkrio Kauffmann (Evangelopoulou i sar., 2010). Ovaj koncept nije zaživeo, ali su Kauffmann i sar. deceniju kasnije predložili isti način razvrstavanja poznatih salmonela u tri vrste samo što su imena vrsta bila promenjena (*S. choleraesuis*, *Salmonella typhosa* i *Salmonella enterica*). Koncept „tri vrste“ održao se do početka 1970. godina kada je su se razvile molekularne metode i postale osnova za tipizaciju izolovanih serovarijeteta (Crosa i sar. 1973; Evangelopoulou i sar., 2010). Crosa i sar., su 1973. godine metodom DNK-DNK hibridizacije dokazali da serovarijeti *Salmonella* pripadaju istoj vrsti. Le Minor i sar., su na osnovu numeričke taksonomije i studija DNK povezanosti, 1982. godine predložili su da se vrsta i šest podvrsta salmonela podvede pod ime *Salmonella choleraesuis*. Ovi autori su takođe predložili da se naziv serovarijeteta ne podvlači i ne piše italicik slovima. Na osnovu razlika uočenih ispitivanjem DNK povezanosti 1989. godine *Salmonella choleraesuis* subsp. *bongori*, prethodno poznata kao podvrsta V, je izdvojena od ostalih podvrsta *Salmonella* kao posebna vrsta (Reeves i sar; 1989; Brenner i sar., 2000; Su i Chiu, 2007). Zbog konfuzije koja je nastala zbog korišćenja naziva "choleraesuis" kao ime vrste i serovarijeteta, 1986. godine Podkomitet za *Enterobacteriaceae* Međunarodnog komiteta za sistematiku bakterija (International Committee on Systematic Bacteriology) na XIV međunarodnom kongresu mikrobiologa predložio je da se vrsta nazove *Salmonella enterica* (Penner 1988; Su i Chiu, 2007). Takođe serovarijetet *choleraesuis* se kao arabinoza i trehaloza negativan, razlikovao po biohemiskim osobine od većine serovarijeteta (Kauffmann i Edwards, 1952; Brenner i McWhorter-Murlin, 1998; Brenner i sar., 2000). Ovaj predlog su 1987. godine Le Minor i

Popoff zvanično predali Pravosudnoj komisiji međunarodnog komiteta za sistematsku bakteriologiju. Naziv „*enterica*”, koji su prvobitno smislili Kauffmann i Edwards 1952. godine, je predložen zato što nije bio korišćen kao ime serovarijeteta. Takođe tada je predloženo da sedam podrobova *Salmonella* budu definisani kao podvrste (subspecies I, II, IIIa, IIIb, IV, V, i VI) (Le Minor i Popoff 1987; Brenner i sar., 2000; Su i Chiu, 2007). Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (Centers for Diseases Control and Prevention-CDC), Ewing u 4. izdanju knjige „*Edward's and Ewing's Identification of Enterobactericeae*, drugi eksperti i laboratorije su prihvatili ovaj naziv, ali predlog je bio odbijen od strane Pravosudne komisije zbog brige da bi se prevideo klinički značaj *Salmonella* serovar Typhi (Ewing 1986; Old 1992; Brenner i sar., 2000; Su i Chiu, 2007). Euzéby je 1999. godine priložio žalbu na ovu odluku i podneo zahtev da se *Salmonella enterica* koristi kao ime vrste a da se zadrži i naziv *Salmonella typhi* koji bi ukazivao na klinički značaj. Pravosudna komisija je 2002. godine pažljivo razmotrila ovaj zahtev, koji je odobren januara 2005. godine i od tada *Salmonella enterica* predstavlja ime vrste roda *Salmonella* (Su i Chiu, 2007). U okviru roda *Salmonella* postoji preko 2500 serovarijeteta (Popoff i sar., 2004).

Iako se prema podacima u literaturi koriste i izraz „serotip“ i „serovarijetet“ u skladu sa Pravilima bakteriološkog koda (Rules of the *Bacteriological Code*- 1990 Revision) koja je ustanovila Pravosudna komisija međunarodnog komiteta za sistematiku prokariota (Judicial Commission of the International Committee on the Systematics of Prokaryotes) termin serovarijetet se smatra pravilnijim pa se zbog toga on i upotrebljava u Kauffmann-White-ovoј šemi (Su i Chiu, 2007). Za klasifikaciju serovarijeteta *Salmonella* danas se koristi Kauffmann-White šema koja predstavlja rezultat dugogodišnjeg ispitivanja interakcije antitela sa površinskim antigenima *Salmonella* i zasnovana je na antigenskim karakteristikama ovih bakterija (Popoff i Le Minor, 2001; Su i Chiu, 2007). Kolaboracioni centar za reference i istraživanja na salmonelama svetske zdravstvene organizacije (The WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*) i Pasteur Institut (Pariz, Francuska) su zaduženi za dopunjavanje ove šeme novootkrivenim serovarijetetima na godišnjem nivou (Popoff i Le Minor. 1997; Brenner i sar., 2000; Popoff i sar., 2000; Su i Chiu, 2007). Sistem serološke tipizacije zasnovan je na identifikaciji razlika u polisaharidnom delu lipopolisaharidnog sloja (O ili somatski antigen) i filamentoznom delu flagela (H ili flagelarni antigen) koji su prisutni na površini bakterije (Heyndrickx i sar., 2005). Akapsularni polisaharid ili Vi antigen prisutan je na površini *Salmonella* Typhi i još nekih serovarijeteta kao to je *Salmonella Dublin* (Libby i sar., 2004; Heyndrickx i sar., 2005).

Bakterije iz roda *Salmonella* pripadaju familiji *Enterobacteriaceae* (Su i Chiu, 2007). Rod *Salmonella* trenutno je podeljen na dve vrste *Salmonella enterica* i *Salmonella bongori*. *Salmonella subterranea* je priznata 2005. godine kao treća vrsta ovog roda, međutim,, na osnovu novijih molekularnih ispitivanja bliža je *Escherichia hermanii* (Popoff i Le Minor, 2001; Shelobolina i sar., 2004; Su i Chiu, 2007; Euzeby 2010). *Salmonella enterica* sadrži šest podvrsta: I *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, II *Salmonella enterica* subsp. *salamae*, IIIa *Salmonella enterica* subsp. *arizona*, IIIb *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae*, IV *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* i VI *Salmonella enterica* subsp. *indica* (Brenner i Whorter-Murlin, 1998; Popoff i Le Minor, 2001; Su i Chiu, 2007). Većina (59%) serovarijeteta *Salmonella* pripada *S. enterica* subsp. I (*S. enterica* subsp. *enterica*) (Popoff i Le Minor, 1997; Brenner i sar., 2000). U okviru *S. enterica* subsp. I, najčešće O-Ag serogrupe su A, B, C1, C2, D i E i serovarijeteti poreklom iz ovih grupa izazivaju oko 99% infekcija ljudi i toplokrvnih životinja (Popoff i Le Minor, 1997; Brenner i sar., 2000). Serovarijeteti podvrste *enterica* dobijaju ime obično prema vrsti domaćina, geografskom poreklu ili njihov naziv ukazuje na oboljenje odnosno sindrom koji izazivaju (Su i Chiu, 2007). Serovarijeteti koji pripadaju *S. enterica* subspecies II (*S. enterica* subsp. *salamae*), IIIa (*S. enterica* subsp. *arizona*), IIIb (*S. enterica* subsp. *diarizonae*), IV (*S. enterica* subsp. *houtenae*), IV (*S. enterica* subsp. *indica*), i *S. bongori* najčešće se izoluju iz hladnokrvnih životinja i spoljašnje sredine, a retko iz materijala humanog porekla (Farmer i sar., 1984; Brenner i sar., 2000). Ovi serovarijeteti ostaju neimenovani i obeležavaju se na osnovu antigenskih karakteristika u skladu sa Kauffman-White šemom (Su i Chiu, 2007). Za razliku od naziva podvrste koja se piše malim italic slovima, ime serotipa se piše velikim početnim slovom. Prilikom prvog pominjanja nekog soja u tekstu neophodno je napisati njegov naziv uz pominjanje vrste, dok se kasnije u tekstu može pominjati samo naziv roda i serotipa. Jedini izuzetak od ovog pravila je serotip Enterica koji se piše bez pomena vrste odmah iza imena roda *Salmonella* (Su i Chiu, 2007).

Serovarijeteti se prema specifičnosti i adaptiranosti na domaćina, u epidemiološke i kliničke svrhe, mogu podeliti u tri grupe. U prvu grupu spadaju *Salmonella* spp.. koje izazivaju tifoidnu i paratifoidnu groznicu kod ljudi (*S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi C*). U drugu grupu su svrstani serovarijeteti adaptirani na domaćina (host-adapted: *S. Gallinarum*- živila, *S. Dublin*- goveda, *S. Abortus*- ekvide, *S. Abortus*-ovce i *S. Choleraesuis*- svinje), od kojih pojedini mogu biti patogeni za ljude ili ući u lanac ishrane. Treću grupu čine serovarijeteti koji nisu adaptirani na nekog specifičnog domaćina i patogeni su i za ljude i za životinje, a ovde spadaju i serovarijeteti koji izazivaju bolesti prenosive hranom (Jay i sar., 2005).

## **2.1.2. Karakteristike *Salmonella* spp.**

*Salmonella* spp., kao i ostali pripadnici familije *Enterobacteriaceae*, su Gram negativne bakterije (Imhoff, 2005; Hald, 2013). To su fakultativno anaerobne, nesporogene, štapićaste bakterije veličine oko  $0.5 \times 1\text{-}4 \mu\text{m}$  (Adams i Moss, 2007). Pokretne su, uz izuzetak *S. Pullorum* i *S. Gallinarum* i kreću se pomoću peritrijalnih flagela (Adams i Moss, 2007; Hald, 2013). S aspekta biohemijskih karakteristika *Salmonella* spp. su katalaza pozitivne, metil - crveno pozitivne, oksidaza negativne, indol negativne, ureaza negativne i Voges - Proskauer negativne. Redukuju nitrate u nitrite. Metabolišu ugljene hidrate oksidativnim i fermentativnim putem, ali ne i laktozu, pa se ova osobina koristi za razlikovanje od *E. coli*, koja je laktoza pozitivna. Ne fermentišu sukrozu, salicin, inozitol i amigdalin (Hendriksen i Larsen, 2003; Imhoff, 2005; Todar, 2006; Adams i Moss, 2007; Hald, 2013). Koriste citrat kao izvor ugljenika sem par serovarijeteta specifičnih za domaćine kao što su serovarijetet *S. Typhi* i *S. Paratyphi A*. Lizin i ornitin dekarboksilaza (Møller – ova reakcija) su pozitivne, uz izuzetak *S. Paratyphi A* koja je lizin dekarboksilaza negativna i *S. Typhi* koja je ornitin dekarboksilaza negativna. Sem većine izolata *S. Paratyphi A* i nekih izolata *S. Choleraesuis*, *Salmonella* spp. proizvode vodonik sulfid. Ne proizvode lipaze i deoksiribonukleaze (Imhoff, 2005). Ove biohemijske odobine se koriste za izolaciju, determinaciju i diferencijaciju *Salmonella* spp..

*Salmonella* spp. rastu na velikom broju podloga i nakon inkubacije na  $37^\circ\text{C}$  u toku 24h, formiraju kolonije 2-4 mm u prečniku. Neki serovarijeteti kao što je *S. Abortusovis*, formiraju manje kolonije oko 1 mm u prečniku (Imhoff, 2005; Jay i sar., 2005). Neke od ovih podloga su diferencijalne i neselektivne kao npr. one koje sadrže laktozu sa pH indikatorom, ali ne sadrže nijedan inhibitor za druge bakterije. Neki medijumi su diferencijalni i delimično selektivni i osim laktoze sa pH indikatorom sadrže inhibitore za bakterije koje ne pripadaju familiji *Enterobacteriaceae* (MacConkey agar i eozin metilen plavi agar). Najčešće korišćeni selektivni mediji za *Salmonella* spp. su SS agar, bizmut sulfitni agar, brilijant zeleni agar, XLD (ksiloza-lizin-dezoksiholat) agar. Ove podloge sadrže selektivne i diferencijalne sastojke (Todar, 2006). Za izolaciju i diferencijaciju *Salmonella* spp. takođe mogu da se koriste i hromogene podloge, koje sadrže hromogene supstrate koji pod dejstvom enzima bakterija menjaju boju. Hromogene podloge olakšavaju razlikovanje kolonija *Salmonella* spp.

od *Citrobacter* spp. i *Proteus* spp. koje na konvencijalnim podlogama mogu dati lažno pozitivne rezultate (Manafi, 2000). Neke od ovih podloga su *CHROMagar Salmonella*, Rambach agar, Chromogenic *Salmonella* esterase agar, Chromogenic ABC medium, AES *Salmonella* Agar Plate (ASAP), Oxoid *Salmonella* Chromogen Media (OSCM) i Miller–Mallinson agar (MM) (Manafi, 2000; Schönenbrücher i sar., 2008).

### **2.1.3. Faktori koji utiču na rast i preživljavanje *Salmonella* spp.**

Na rast i opstanak *Salmonella* spp. utiču brojni faktori a najznačajniji su temperatura, pH vrednost i aktivnost vode ( $a_w$  vrednost), koji deluju međusobno jedni na druge kao i sa sastojcima hrane ili sredine u kojima se bakterije nalaze (Jay i sar., 2005).

*Salmonella* spp.. mogu da rastu na temperaturi između 5 °C i 47 °C, mada je optimalna temperatura 37 °C. *Salmonella* spp. su osjetljive na toplotu i brzo ih inaktivise temperatura pasterizacije. *S. Senftenberg* 775 W, predstavlja serovarijetet koji je najotporniji na visoke temperature. U zamrznutoj hrani broj *Salmonella* spp. polako opada, a stopa njihovog opadanja je srazmerna smanjenju temperature na kojoj se namirnica skladišti (Adams i Moss, 2007).

Optimalna pH vrednost za rast *Salmonella* spp. je 7, dobro rastu između pH 6,6 i pH 8,2, opseg rasta ovih bakterija od pH 4 do pH 9, dok niže i više pH vrednosti imaju baktericidni efekat (Adams i Moss, 2007; Pui i sar., 2011; Silva i Gibbs, 2012). Aeracija favorizuje rast *Salmonella* spp. pri nižim pH vrednosti (Jay i sar., 2005).

Aktivnost vode ( $a_w$ ) je faktor koji značajno utiče na opstanak *Salmonella* spp.. Minimalna  $a_w$  vrednost pri kojoj je zabeležen rast *Salmonella* spp. je 0,93, dok je optimalna  $a_w$  vrednost za njihov rast 0,99 (Jay i sar., 2005; Adams i Moss, 2007; Podolak i sar., 2010). *Salmonella* spp. mogu da prežive dug vremenski period u namirnicima koje imaju nisku  $a_w$  vrednost. Rezultati istraživanja su pokazali da snižavanje  $a_w$  vrednosti u namirnicama štiti *Salmonella* spp. od inaktivacije (Beuchat i Scouten, 2002; Doyle i Mazzotta, 2000; Jay i sar., 2005; Santillana Farakos i sar., 2013). Smatra se da je porast osjetljivosti na dejstvo visokih temperatura u hrani sa niskim sadržajem vode rezultat interakcije bakterijskih ćelija sa sastojcima hrane (Podolak i sar., 2010).

*Salmonella* spp. su osjetljive na jonizujuće zračenje i doze između 5 i 5,7 kGy su dovoljne za eliminaciju iz hrane za ljude i životinje (Jay, 2005).

*Salmonella* spp. na zahtevaju NaCl za rast, međutim, mogu da rastu u prisustvu 0,4% do 4% soli (Gray i Fedorka-Cray, 2002; Pui i sar., 2011). Ove bakterije su osjetljive na visoke

konzentracije soli i u literaturi se mogu naći podaci da rastvor soli iznad 9% ima baktericidni efekat na *Salmonella* spp.. Nitriti efikasno deluju na inhibiciju *Salmonella* spp. i njihova efekat se povećava sa snižavanjem pH vrednosti (Jay i sar., 2005).

#### **2.1.4. Značaj *Salmonella* spp. kao uzročnika bolesti prenosivih hranom**

Uprkos naporima koje prehrambena industrija ulaže u poboljšanje higijene i procesa proizvodnje, konstantan monitoring i implementaciju HACCP principa i pored napretka koji je zabeležen u njihovoј kontroli, bolesti prenosive hranom i dalje predstavljaju uzrok miliona oboljenja godišnje, na globalnom nivou (Bacon i Sofos, 2003; Sofos, 2008; Newell i sar., 2010; Linscott, 2011; Bošković i sar., 2013a). Svetska zdravstvena organizacija je 2005. godine prijavila 1,8 miliona smrtnih slučajeva uzrokovanih dijarealnim oboljenjima, a najveći broj njih bio je povezan sa kontaminiranom hranom ili vodom (Sofos, 2008; Newell i sar., 2010). Zajedno sa *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. predstavljaju jedne od najrasprostranjenijih bakterijskih uzročnika prenosivih hranom i jedne od najznačajnijih, kako sa zdravstvenog, tako i sa ekonomskog aspekta (Bacon i Sofos, 2003; EFSA, 2010).

#### **2.1.5. Incidencija salmoneloze**

U razvijenim zemljama slučajevi tifoidne groznice su malobrojni, međutim, zabeležen je porast incidencije netifoidne salmoneloze na globalnom nivou. Prema podacima svetske zdravstvene organizacije godišnje se na globalnom nivou zabeleži 16-17 miliona slučajeva tifoidne salmoneloze godišnje od kojih se 600000 završi letalno. Stopa mortaliteta varira u zavisnosti od regionalnih razlika, ali iznosi između 5 i 7% uprkos antibiotskim tretmanima. Broj slučajeva netifoidne salmoneloze iznosi oko 1,3 milijarde, a letalnih ishoda ima oko 3 miliona, zbog čega se netifoidna salmoneloza smatra jednim od najvećih uzroka mortaliteta na globalnom nivou, naročito kod dece starosti ispod pet godina (Graham, 2002; Pui i sar., 2011). U najvećem broju slučajeva serovarijeteti vrste *Salmonella enterica* su povezani sa značajnim morbiditetom i mortalitetom jedinki inficiranih ovom patogenom bakterijom. Procenjeno je da je 95% slučajeva salmoneloze povezano sa konzumiranjem kontaminirane hrane (Mead i sar., 1999; Foley i sar., 2008).

Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC) je prijavio 1,4 miliona slučajeva salmoneloze godišnje u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD), od kojih se 17.000 hospitalizuje, a 585 završi letalnim ishodom (Mead i sar., 1999; Voetsch i sar., 2004). Podaci skorijeg datuma

pokazuju da u SAD na godišnjem nivou zabeleži se između 2 i 4 miliona slučajeva gastrointestinalnog oblika salmoneloze sa oko 500 smrtnih slučajeva (Pui i sar., 2011).

U periodu od 2005. do 2009. godine u Evropskoj uniji (EU) se beleži smanjenje incidencije salmoneloze (Chironna i sar., 2014). U EU, 2006. godine salmoneloza je sa 160.649, a 2008. godine sa 131468 potvrđenih slučajeva predstavljala nakon kampilobakterioze, najčešće prijavljivano oboljenje zoonotskog karaktera (EFSA, 2007; Alakomi, i Saarela 2009; Carrasco i sar., 2012). Poređenjem podataka iz 2006. godine u odnosu na podatke iz 2005. godine zabeležen je pad od 7,6% slučajeva pojave salmoneloze, dok je pad od 13,5% zabeležen 2008. godine u odnosu na 2007 (Alakomi i Saarela 2009; Carrasco i sar., 2012). U EU 2009. godine prijavljeno je 108 slučajeva salmoneloze na 100.000 stanovnika (Chironna i sar., 2014). Ipak u pojedinim zemljama EU incidencija pojave salmoneloze je i dalje u porastu, što ukazuje da je konstantan trud na suzbijanju ove patogene bakterije i dalje neophodan (Chironna i sar., 2014).

U periodu između 2001. i 2002. godine u Australiji 33% (5,4 miliona slučajeva) gastroenteritisa bilo je izazvano uzročnicima bolesti prenosivih hranom, a u 88% kao uzročnik je bila detekstovana *Salmonella* spp. (Hall i sar., 2005; Fearnley i sar., 2011). I u Australiji, kao i u Evropi, salmoneloza sa 45,3 prijavljenih slučajeva na 100000 stanovnika, predstavlja nakon kampilobakterioze najrasprostranjenije gastrointestinalno oboljenje (Department of Health and Ageing, 2008; Fearnley i sar., 2011).

Sa hronološkog aspekta do sredine osamdesetih godina prošlog veka salmoneloza izazvana *Salmonella* Enteritidis je bila retka, kada je počela da se sve češće javlja kako u Evropi tako i u drugim delovima sveta (Cogan i Humphrey, 2003; Poppe, 1999; Carrasco i sar., 2012). Tokom devedesetih godina *Salmonella* Enteritidis je po broju potvrđenih slučajeva oboljenja prestigla *Salmonella* Typhimurium u mnogim zemljama (Angulo i Swerdlow, 1999; Cogan i Humphrey, 2003; Carrasco i sar., 2012). U Australiji i Novom Zelandu češće se javljaju epidemije izazvane *Salmonella* Typhimurium, nego u SAD i Kanadi gde je uzročnik salmoneloze u najvećem broju slučajeva *Salmonella* Enteritidis (CDC, 2004; Dalton i sar., 2004; Carrasco i sar., 2012).

Što se tiče rasprostranjenosti u EU i SAD, *Salmonella* Enteritidis i *Salmonella* Typhimurium predstavljaju serovarijetete sa najvećom incidencijom pojave (CDC, 2006; Alakomi, i Saarela 2009; CDC, 2009; Carrasco i sar., 2012; Cheung, i Kam, 2012). U Australiji rasprostranjenost *Salmonella* spp. varira i iako *Salmonella* Typhimurium predstavljala najčešće prijavljivani serovarijetet u 2008. godini, *Salmonella* Enteritidis predstavlja sve češće prijavljivanog uzročnika salmoneloze iako nije endemski patogen za ovo područje

(Yates, 2011). Globalna distribucija hrane i konstantna kretanja ljudi omogućavaju širenje ove patogene bakterije i njenih serovarijeteta u delove sveta u kome ranije nisu bili zastupljeni (Carrasco i sar., 2012).

Najveći broj salmoneloze izazva *Salmonella Enteritidis* i *Salmonella Typhimurium*, mada se beleži rast infekcija izazvanih serotipovima *Salmonella Infantis* i *Salmonella Neweport* (Schneider i sar., 2011; Chironna i sar., 2014).

Ipak pravi podaci o incidenciji pojave salmoneloze ne predstavljaju u potpunosti sliku realne situacije, jer se retko izoluje uzročnik i postavlja dijagnoza sem kod težih slučajeva ili oni koji se javljaju u obliku epidemija, dok sporadični slučajevi, kao i oni koji ne zahtevaju hospitalizaciju ili prolaze sa blažim simptomima ostaju neprijavljeni (Majowicz i sar., 2005; Chironna i sar., 2014). Podaci o pojave salmoneloze u mnogim zemljama Azije, Afrike, Južne i centralne Amerike pokazuju da se samo 1 od 10% slučajeva prijavljuje (Hanes, 2003; Hu i Kopecko, 2003; Pui i sar., 2011).

Prema podacima iz godišnjeg izveštaja iz 2013. godine Instituta za javno zdravlje Srbije dr Milan Jovanović Batut u 2012. godini u Republici Srbiji od ukupno 15677 slučajeva prijavljenih crevnih zaraznih oboljenja, bilo je 1550 registrovanih slučajeva obolelih od salmoneloze (incidenca od 21,35 na 100 hiljada stanovnika), a ujedno ovo je bilo najčešće potvrđeno crevno oboljenje. Najviša specifična incidencija registrovana je u uzrasnoj grupi 0–4 godine (157,19/100.000), a najniža u uzrasnoj grupi 40–49 i 60 i više godina (10,69/100.000, odnosno 10,96/100.000). Prema podacima iz godišnjeg izveštaja iz 2014. godine Instituta za javno zdravlje Srbije dr Milan Jovanović Batut u 2013. godini u Republici Srbiji bilo je 1479 registrovanih slučajeva obolelih od salmoneloze (incidenca od 20,58 na 100 hiljada stanovnika), dok je taj broj za 2014. godinu iznosio 1512 slučajeva sa incidencijom 21,1 na 100 hiljada stanovnika. Najviša specifična incidencija registrovana je u uzrasnoj grupi 0–4 godine (157,19/100.000), a najniža u uzrasnoj grupi 40–49 i 60 i više godina (10,69/100.000, odnosno 10,96/100.000). Podaci o epidemijama salmoneloznim oboljenjima za kojena su prikazani u tabelama.

Broj obolelih i umrlih od oboljenja uzrokovanim *Salmonella* spp. u Republici Srbiji za period od 2011. do 2013.godine

Oboljenje	Ukupno Oboleli/Umrli	Centralna Srbija Oboleli/Umrli	Vojvodina Oboleli/Umrli	
Enteritis salmonellosa	1848/-	1344/-	504/-	2011. godina
Salmonellosis septica	11/-	7/-	4/-	
Salmonellosis non specificata	44/-	34/-	10/-	
Enteritis salmonellosa	1494/1	1093/1	401/-	2012. godina
Salmonellosis septica	2/-	-	2/-	
Salmonellosis non specificata	54/-	47/-	7/-	
Enteritis salmonellosa	1479/-	1019/-	460/-	2013. godina
Salmonellosis septica	12/-	4/-	8/-	
Salmonellosis non specificata	79/-	47/-	32/-	

Alimentarne epidemije uzrokovane *Salmonella* spp. u Republici Srbiji u periodu od 2010. do 2014. godine

	2010.	2011.	2012.	2013.	2014.
Broj epidemija	73	63	73	75	46
Broj obolelih	577	483	577	480	409

### **2.1.6. Hrana kao izvor *Salmonella* spp.**

Salmoneloza je oboljenje zoonotskog karaktera, pa izvor *Salmonella* spp. za ljude najčešće su životinje i proizvodi animalnog porekla. Infekcija nastaje feko-oralnim putem ingestijom intestinalnog sadržaja inficiranih jedinki najčešće putem hrane i vode (Adams i Moss, 2007; Fearnley i sar., 2011). I direktni kontakt sa fecesom životinje može biti uzrok pojave salmoneloze. Najčešće se kao prenosioци *Salmonella* spp. na ljude pominje živina i druge ptice, goveda i svinje, kućni ljubimci kao što su psi i mačke, ali i egzotične životinje poput kornjača i reptila (Heymann, 2004; Riemann i Cliver, 2006; Fearnley i sar., 2011).

Prenos ove patogene bakterije sa čoveka na čoveka je reda pojava, međutim, dešava se u lošim higijenskim uslovima, najčešće prilikom manipulacije hranom sa neopranim rukama koje su fekalno kontaminirane (Adams i Moss, 2007). Ovo je naročito značajan put prenosa serovarijeteta *S. Typhi* i *S. Paratyphi A*, za koje životinje nisu rezervoari (Newell i sar., 2010; Pui i sar., 2011).

I pored mnogobrojnih izvora i puteva kontaminacije, konzumiranje kontaminirane hrana i dalje predstavlja najznačajniji način prenosa ovog, a i mnogih drugih patogenih mikroorganizama. Podaci iz literature pokazuju da je 86-95% salmoneloze ljudi nastalo kao posledica trovanja hranom (Majowicz i sar., 2010; Mughini-Gras i van Pelt, 2014). Ipak iako široki spektar namirnica može biti izvor *Salmonella* spp., kao uzrok trovanja ljudi najčešće se pominje konzumiranje mesa, jaja i mleka (Riemann i Cliver, 2006; Adams i Moss, 2007; Fearnley i sar., 2011).

### **2.1.7. Meso sa posebnim osvrtom na svinjsko meso kao izvorom *Salmonella* spp.**

Meso živine, svinjsko i goveđe meso predstavljaju najznačajnije izvore *Salmonella* spp. poreklom iz hrane (Bacon i sar., 2002; Botteldoorn i sar., 2003; Carrasco i sar., 2012).

Sa epidemiološkog aspekta, konzumiranje mesa živine već dugo vremena predstavlja najznačajniji uzrok trovanja *Salmonella* spp., a sve veći značaj pridaje se i proizvodima od mesa živine koji su često nedovoljno termički obrađeni (Pui i sar., 2011; Carrasco i sar., 2012). *Salmonella* spp. koje kolonizuju digestivni trakt živine mogu biti različitog porekla, a kao izvori najčešće se navode roditeljska jata, hrana, divlje ptice i glodari (Bailey i sar., 2001; Riemann i Cliver, 2006). Uz izuzetak *S. Gallinarum* i *S. Pullorum*, klinička simptomi obično nisu prisutni a pozitivna jata predstavljaju potencijalnu opasnost po zdravlje ljudi.

Serovarijeteti najčešće izolovani iz mesa živine su *S. Enteriditis*, *S. Typhimurium*, *S. Hadar*, *S. Virchow*, *S. Infantis*, a u poslednje vreme i *S. Paratyphi B* var. *Java* (Riemann i Cliver, 2006). Do kontaminacije trupova obično dolazi prilikom procesa klanja a najznačajnije operacije su šurenje, čupanje perija, evisceracija i hlađenje prilikom kojih lako može doći do unakrsne kontaminacije (Riemann i Cliver, 2006; Carrasco i sar., 2012).

Nakon *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* je drugi po redu najčešći serovarijetet uzročnik salmoneloze ljudi i najčešće izolovan serovarijetet iz svinjskog mesa (EFSA i ECDC, 2009; Soumpasis i sar., 2012). Svinje su značajan rezervoar *Salmonella* spp., a poslednjih godina sve veći značaj pridaje se svinjskom mesu kao uzroku salmoneloze kod ljudi (Fedorka-Cray i sar., 2000; Hald i sar., 2003; Boyen i sar., 2008). Svinjsko meso nakon mesa živine (piletina i čuretina), predstavlja najčešće kontaminiranu namirnicu u EU (EFSA, 2013). U više evropskih zemalja i do 25% slučajeva salmoneloze kod ljudi se povezuje sa konzumiranjem svinjskog mesa i proizvoda od svinjskog mesa (van Pelt i sar., 2000; Valdezate i sar., 2005; EFSA, 2006; Van Hoek i sar., 2012). Serovarijeteti koji se izoluju iz mesa svinja, a predstavljaju izvor salmoneloze ljudi su *S. Typhimurium* i *S. Derby* (Gebreyes i sar., 2004; Valdezate i sar., 2005; EFSA, 2006, 2008a, 2008b, 2009; Delhalle i sar., 2009; De Busser i sar., 2011; Gomes-Neves i sar., 2012). U toku uzgoja svinje se mogu inficirati *Salmonella* spp. putem kontaminirane hrane, vode, vektora ili direktno iz neposrednog okruženje (Carrasco i sar., 2012). Inficirane svinje mogu da izlučuju *Salmonella* spp. fecesom i 36 nedelja nakon infekcije, naročito usled delovanja faktora stresa (Gonzales-Barron i sar., 2012). Svinje mogu da se inficiraju tokom transporta do klanice ili boravka u stočnom depou koji predstavlja jedan od najvećih izvora *Salmonella* spp. neposredno pre klanja (Hurd i sar., 2001; Swanenburg i sar., 2001). Jedinke koje su nosioci ove patogene bakterije predstavljaju konstantan izvor *Salmonella* spp. u klanici i proizvodnom pogonu, dovodeći do kontaminacije mesa koje tada predstavlja potencijalnu opasnost po ljudsko zdravlje (Alban i Stärk, 2005; Boyen i sar., 2008; Baptista i sar., 2010; Duggan i sar., 2010; Van Hoek i sar., 2012; Argüello i sar., 2014). Svinje mogu nositi *Salmonella* spp. na koži prilikom ulaska na liniju klanja ili se linija klanja kontaminira fecesom inficiranih jedinki, mada i oprema i voda koja se koristi tokom klanja mogu dovesti do kontaminacije trupa. U toku klanja može doći i do unakrsne kontaminacije trupova (Bolton i sar., 2002; Warriner i sar., 2002; Hald i sar., 2003; Baptista i sar., 2010; Visscher i sar., 2011; Van Hoek i sar., 2012). Posle klanja, tokom hlađenja, sečenja, otkoštavanja, skladištenja i stavljanja mesa u maloprodaju, treba voditi računa o načinu postupanja sa mesom, vremenu i temperaturi skladištenja i izbegavanju unakrsne kontaminacije koja se može dogoditi ukoliko se radi sa velikim količinama sirovog

mesa (Berends i sar., 1998; Duffy i sar., 2001; Lo Fo Wong i sar., 2003; Carrasco i sar., 2012; Choi i sar., 2013). Prisustvo *Salmonella* spp. je dokazano i u proizvodima od svinjskog mesa (Boughton i sar. 2004; Cabedo i sar., 2008; Prendergast i sar., 2009). Boughton i sar. (2004) izolovali su *Salmonella* spp. iz 2,9% uzoraka svinjskih kobasicica iz maloprodaje u Irskoj (n=921), dok su Cabedo i sar. (2008) izolovali *Salmonella* spp. iz 2% uzoraka kuvane šunke (n=53) i 11,1% fermentisanih kobasicica (n=81) u Španiji. Rezultati ispitivanja sprovedenih u supermarketima i mesarama u Porto Alegre u Brazilu, pokazali su da je 24,4% svežih kobasicica kontaminirano *S. enterica* (n=336) (Mürmann i sar., 2009).

Goveđe meso predstavlja značajan izvor *Salmonella* spp. i konzumiranje kontaminiranog mlevenog goveđeg mesa prijavljeno je više puta kao uzrok salmoneloze ljudi (CDC, 2006, 2011, 2012, 2013). Kontaminirana goveda koža odgovorna je za kontaminaciju površine trupa koja kasnije može uzrokovati prisustvo *Salmonella* spp. u mlevenom mesu (Arthur i sar., 2008; Barkocy-Gallagher i sar., 2003; Li i sar., 2015). Iako je implementacija HACCP sistema dovela do značajnog smanjenja broja bakterija *Salmonella* spp.. u mlevenom goveđem mesu, rizik od prenošenja ovog patogenog mikroorganizma kroz lanac ishrane nikako se ne sme zanemariti, a pažnja se naročito treba posvetiti svežem mesu, dimljenim i delimično kuvanim proizvodima od mesa (Eblen i sar., 2006; Carrasco i sar., 2012). Rezultati ispitivanja prevalencije *Salmonella* spp. u uzorcima goveđeg mesa pokazuju da pojava ove bakterija u goveđem mesu dostiže stopu od 1,1%, 2,4%, 4,2%, pa čak i stopu do 6% (Center for Disease Control, 2006; Eblen i sar., 2006; Little i sar., 2008; Bosilevac i sar., 2009; Gallegos-Robles i sar., 2009; Carrasco i sar., 2012).

### **2.1.8. Druge namirnice kao izvor *Salmonella* spp.**

Jaja i proizvodi od jaja predstavljaju značajan izvor *Salmonella* spp.. Serovarijetet koji se najčešće povezuje sa konzumiranjem jaja i proizvoda od jaja je *Salmonella Enteritidis* (EFSA, 2005; EFSA, 2007; Gross i sar., 2015). Jaja se mogu kontaminirati *Salmonella* spp. tokom formiranja, ali češće tokom ili nakon leženja preko fecesa inficiranih nosilja (Gast i Beard, 1992; Carrasco i sar., 2012; Gross i sar., 2015). Smatra se da skladištenje jaja na niskim temperaturama sprečava rast ove patogene bakterije, međutim,, ukoliko se prekine hladni lanac *Salmonella* spp. mogu da penetriraju ljsuku jajeta i kroz belance migriraju do žumanca koje predstavlja pogodnu sredinu za njihov rast i razmnožavanje (EFSA, 2005; De Reu i sar., 2006; Gast i sar., 2010; Carrasco i sar., 2012; Gross i sar., 2015).

Osim mesa i jaja, izvor *Salmonella* mogu predstavljati i mleko i mlečni proizvodi. Samtra se da je fekalna kontaminacija tokom muže glavni put prelaska ove patogene bakterije u mleko, a konzumiranje sirovog mleka predstavlja faktor rizika za pojavu infekcije (Le Jeune i Rajala-Schultz 2009; Carrasco i sar., 2012). Iako se smatra da je sir jedna od najbezbednijih namirnica, oni proizvedeni od nepasterizovanog mleka mogu biti izvori *Salmonella* spp. (Kousta i sar., 2010).

Poslednjih godina *Salmonella* spp. se sve češće izoluju iz proizvoda biljnog porekla. Zabeležen je nalaz ove bakterije u celeru, brokoliju, karfiolu, kupusu i spanaću, a u SAD izvor infekcije u epidemiji salmoneloze bio je kontaminirani paradajiz (Quiroz-Santiago i sar., 2009; Carrasco i sar., 2012). Začinske biljke tokom perioda rasta, branja, sušenja mogu biti izloženi mikrobnoj kontaminaciji pa tako predstavljaju i potencijalni izvor *Salmonella* spp. (Moreira i sar., 2009; Carrasco i sar., 2012). U periodu od 1973. do 2010. godine zabeleženo je više epidemija i slučajeva trovanja *Salmonella* spp.. Iz crnog i belog bibera, paprike, karija, anisa, kurkume, semena komorača izolovani serovarijeteri bili su *S. Agona*, *S. Braenderup*, *S. Enteritidis*, *S. Javiana*, *S. Montevideo*, *S. Oranienburg*, *S. Rissen*, *S. Rubislaw*, *S. Saintpaul*, *S. Senftenberg*, *S. Typhimurium*, *S. Wandsworth* i *S. Weltevreden* (Van Doren i sar., 2013).

Namirnice sa malim sadržajem slobodne vode ne predstavljaju pogodnu sredinu za rast patogenih mikroorganizama, pa samim tim ni *Salmonella* spp. (Betts, 2007). Ipak rezultati istraživanja pokazuju da *Salmonella* spp. mogu da prežive u namirnicama sa niskom  $a_w$  vrednošću koje sadrže visok sadržaj masti (Shachar i Yaron, 2006). Jedan od primera je pojava *Salmonella* spp. u čokoladi, jer iako to nije pogodna sredina za rast ove bakterije ona može dugo da preživi i predstavlja rizik po zdravlje ljudi. Iz čokolade su izolovane *Salmonella Eastbourne* i *Salmonella Montevideo* (Food Standards Agency, 2006; Carrasco i sar., 2012). Opisano je dosta slučajeva u kome su izvor *Salmonella* spp. bili orašasti plodovi i semenke (Podolak i sar., 2010). Do kontaminacije *Salmonella* spp. može doći tokom perioda rasta i branja ili naknadom kontaminacijom tokom skladištenja, a kontaminirani sirovi plodovi mogu biti uzrok kontaminacije krajnjeg proizvoda (Carrasco i sar., 2012; Schaffner i sar., 2013). Kikiriki buter je takođe jedna od namirnica koja se sve češće povezuje sa pojavom salmoneloze (Funk, 2007). U SAD je u periodu od 2007. do 2009. godine zabeleženo 1150 slučajeva trovanja uzrokovano konzumiranjem kikiriki butera kontaminiranog *Salmonella* spp. (CDC, 2011; Grasso i sar., 2015). Metoda sušenja raspršivanjem predstavlja proizvodnju praha iz tečnosti brzim sušenjem vrelim gasom. Na ovaj način se proizvodi mleko u prahu, čaj, kafa, cerealije, jaja u prahu itd. Faktori koji utiču

na preživljavanje *Salmonella* spp. u ovim proizvodima su temperatura sušenja, gustina čestica, sadržaj masti i serovarijetet (Miller i sar., 1972; Carrasco i sar., 2012). *Salmonella* spp.. su izolovane i iz formula za ishranu dece (Angulo i sar., 2008).

Morski plodovi često su nosioci patogenih mikroorganizama, uzročnika bolesti prenosivih hranom. *Salmonella* spp. nisu fiziološki deo mikroflore morskih životinja, ali one se mogu naći u morskim plodovima kao posledica fekalne kontaminacije putem otpadnih voda ili loših higijenskih uslova tokom izlovljavanja, transporat i skladištenja (Lunestad i Borlaug, 2009). U najvećem broju slučajeva se kod salmoneloza nastalik nakon konzumiranja morskih plodova kao izvor *Salmonella* spp. navode škampe (Wan Norhana i sar., 2010).

### **2.1.9. Patogeneza salmoneloze**

Da bi izazvale infekciju i oboljenje *Salmonella* spp. moraju da savladaju odbrambene mehanizme domaćina. Iako sredina u želudcu sa niskom pH vrednošću nepovoljno utiče na veliki broj bakterije, neke bakterije poput *Salmonella* spp. razvile su mehanizme odbrane kao što su tolerancija na kiseline („acid tolerance response“ - ATR) i proteine kiselinskog šoka (acid shock proteins) (Cary i sar., 1999; Boyen i sar., 2008). Bakterije koje prežive pasažu kroz želudac prelaze u creva gde se sreću sa drugim antimikrobnim supatancama kao što su žučne soli, lizozimi i defensini. I pored toga što *Salmonella* spp. mogu biti otporne na direktno delovanje žučnih soli, one deluju supresivno na ove bakterije verovatno na taj način što smanjuju ekspresiju gena virulencije (Prouty i Gunn, 2000). Pošto se visoke koncentracije žučnih soli nalaze u proksimalnim partijama tankog creva pa se prepostavlja da je to razlog zašto *Salmonella* spp. kolonizuju ileum i distalne partije creva (Boyen i sar., 2008). Zbog nedostatka glikokaliksa i mikrovila na površini, M ćelije Pajerovih ploča predstavljaju mesto adherencije *Salmonella* spp. (Cary i sar., 1999; Lahiri i sar., 2010). Nakon vezivanja za M ćelije *Salmonella* spp. indukuju reorganizaciju citoskeleta na apikalnoj površini ovih ćelija, a utiču i na njihovo sazrevanje. *Salmonella* spp. se već 5 min nakon infekcije mogu naći u M ćelijama. *Salmonella* spp. prolaze kroz M ćelije do limfocita i na taj način ih trajno oštećuju. Već 30-120 min. nakon infekcije dolazi do propadanja M ćelija, a *Salmonella* spp. inficiraju susedne enterocite (Lahiri i sar., 2010). *Salmonella* spp. se vezuju za ćelije putem više vrsta fimbrija koje imaju afinitet prema različitim vrstama intestinalnih ćelija, pa tako duge polarne fibrije (long polar fimbriae-Lpf) omogućavaju vezivanje za M ćelije, plazmid kodirane fimbrije (plasmid-encoded fimbriae-Pef) za mikrovile intestinalnog epitela, a fimbrije prvog tipa za različite vrste ćelija (Althouse i sar., 2003). Nakon vezivanja za epitelne ćelije, kod bakterija se eksprimira sekretorni sistem tipa III (T3SS) koji

omogućava prodiranje u ćelije i invaziju. T3SS predstavlja kompleks proteina koji omogućavaju transfer faktora virulencije direktno u ćelije i utiče na bar 20 strukturalnih i regulatornih proteina koji su uključeni u invaziju ćelija (Boyen i sar., 2008; Lončina, 2014). Geni koji kodiraju T3SS sistem nalaze se na ostrvu patogenosti 1 (*Salmonella pathogenicity island-1* - SPI-1). Ovaj sistem dovodi do stavaranje citokina (Boyen i sar., 2008). Ostrva patogenosti se sastoje od gena koji kodiraju faktore virulencije odgovorne za adheziju i invaziju, kao i gena za proizvodnju toksina. *Salmonella* biva uvučena u ćeliju u specifičnoj vakuoli („*Salmonella containing vacuole*“ - SCV), u kojoj je bakterija zaštićena od lizozomalnih procesa prilikom ulaska u makrofage Pajerovih ploča. Sistemske infekcije uzrokovane *Salmonella* spp vezane su za T3SS, kodiranim sa ostrva patogenosti 2 (*Salmonella pathogenicity island-2*) (Lončina, 2014).

#### **2.1.10. Klinička slika i kliconoštvo**

Broj bakterijskih ćelija neophodnih da izazove salmonelozu obično je visok i varira između  $10^7$  i  $10^9$ . Prema epidemiološkim podacima, broj bakterijskih ćelija u namirnicama koje su bile detektovane kao izvor *Salmonella* spp. varirao je od 100/100g (*S. Eastbourne* u čokoladi) do 15000/g (*S. Cubana* iz rastvora boje za karmin) (Jay i sar., 2005). U namirnicama sa višim sadržajem masti, kao što su npr. sir i čokolada, potrebna je manja količina *Salmonella* spp. i samo nekoliko bakterija može da izazove infekciju (De Jong i Ekdahl, 2006). Infektivna doza zavisi i od serovarijeteta, pa je tako za infekciju izazvanom *S. Enteritidis* potreban manji broj bakterijskih ćelija nego u slučaju *S. Typhimurium* (Teunis i sar., 2010). Ipak postoji razlika u dozi koja je neophodna za infekciju i onoj pri kojoj će se ispoljiti simptomi. Rezultati istraživanja pokazuju da minimalni broj *Salmonella* spp. potreban da izazove gastroenteritis varira od  $10^5$  do  $10^6$  za *S. Bareilly* i *S. Newport* do  $10^9$  do  $10^{10}$  za *S. Pullorum* (Jay i sar., 2005). Takođe da li će se oboljenje javiti zavisi i od prijemčivosti same jedinke. Deca, stare osobe, osobe sa kompromitovanim imunskim sistemom, malignim oboljenjima, nakon transplantacije organa i osobe sa smanjenim aciditetom u želucu, predstavljaju populaciju pod rizikom i infektivna doza potrebna za izazivanje oboljenja kod ovih jedinki je niža, a simptomi oboljenja mogu da budu teži (De Jong i Ekdahl, 2006; Yen i sar., 2009; Teunis i sar., 2010; Sánchez-Vargas i sar., 2011).

Kod ljudi se infekcija sa *Salmonella* spp. može manifestovati kao tifoidna i paratifoidna groznica ukoliko su uzročnici oboljenja *S. Typhi* i *S. Paratyphi*, ili kao netifoidna salmoneloza (Sánchez-Vargas i sar., 2011).

Kod tifoidne groznice period inkubacije traje između 3 i 60 dana, prosečno 7 do 14 dana (Bhan i sar., 2005; Sánchez-Vargas i sar., 2011). Simptomi koji karakterišu pojavu tifoidne groznice su glavobolja, dijareja zelenkasto žute boje ili konstipacija i abdominalni bol. Od nespecifičnih simptomoma javljaju se grozica, gubitak apetita, neproduktivni kašalj ili mijalgija. Prva nedelja praćena je blago povišenom temperaturom koja progresivno raste u toku druge nedelje bolesti i može perzistirati i ukoliko se ne leči može perzistirati i četiri nedelje (Mansuwan i Taylor, 1987; Pohan, 2004; Thielman i Guerrant 2004; Pegues i sar., 2005; Riemann i Cliver, 2006; Patel i sar., 2010; Sánchez-Vargas i sar., 2011). U manje od 50% slučajeva može se javiti bradikardija, najčešće tokom druge nedelje bolesti, a u oko 30% slučajeva (25-50%) na koži stomaka i grudi javljaju se makulopapularne ružičaste promene prečnika 2-4 mm. Mogu se javiti i splenomegalija, hepatomegalija i promene psihičkog stanja (Connor i Schwartz, 2005; Pegues i sar., 2005; Riemann i Cliver, 2006; Kuvandik i sar., 2009; Patel i sar., 2010; Sánchez-Vargas i sar., 2011). Najšešća komplikacija koja se javlja u digestivnom traktu je krvarenje koje nastaje usled erozije Pajerovih ploča, mada može doći i do perforacije creva, najčešće ileuma, hepatitis, holecistikita, pankreatitisa i peritonitisa (Connor i Schwartz, 2005; Sánchez -Vargas i sar., 2011). Iako retke, ekstraintestinalne komplikacije tokom infekcije uzrokovane *S. Typhi* mogu se javljiti u CNS-u (meningitis, hemoragije, encefalopatije, Guillain-Barré sindrom, periferne neuropatije), kardiovaskularnom (miokarditis, endokarditis, intravaskularna koagulacija, tromboza) i respiratornom sistemu (pneumonija, pleuralni izliv), na bubrežima (akutna renalna insuficijencija, glomerulonefritis, pijelonefritis) ili kao promene u obliku infekcije kostne srži, zglobova, jetre, slezine i mišića (Sánchez-Vargas i sar., 2011). Hronično kliconoštvo predstavlja izlučivanje *S.Typhi* fecesom ili urinom u periodu dužem od 12 meseci. Kod nekih individua kliconoštvo može da traje decenijama i oni predstavljaju rezervoare ove patogene bakterije. Određene demografske grupe poput žena, dece, starih i osoba sa holelitijazom češće postaju hronične kliconoše (Sánchez-Vargas i sar., 2011).

Inkubacioni period kod netifoidne salmoneloze je dosta kraći i iznosi između 6 i 48 h (Acheson i Hohmann, 2001; Riemann i Cliver, 2006; Sánchez-Vargas i sar., 2011). U nekim slučajevima osobe mogu biti subklinički kolonizovane *Salmonella* spp. i simptomi se mogu javiti i nakon 10 dana od ingestije ovog mikroorganizma (Riemann i Cliver, 2006). Simptomi koji se najčešće javljaju su mučnina, povraćanje i dijareja bez pojave krvi. Ovi simptomi često su praćeni visokom temperaturom, groznicom, abdominalnim bolom, grčevima, mijalgijom, bolom u zglobovima i glavoboljom. Hepatomegalija i splenomegalija se ređe javljaju a ovaj oblik nije prečen perforacijom creva. Kao komplikacije digestivnog trakta

javljaju se upala slepog creva, pankreatitis, holecistitis, holangitis i abdominalni ili perianalni apces (Acheson i Hohmann, 2001; Sánchez-Vargas i sar., 2011). Bakterijemija se dešava u 5% slučajaeva i može biti povezana sa ekstraintestinalnim promenama (Fisker i sar., 2003; Zaidenstein i sar., 2010; Sánchez-Vargas i sar., 2011). Ekstraintestinalne komplikacije kod netifoidnog oblika salmoneloze se najčešće javljaju na plućima u vidu pneumonije ili empijema. Ostale komplikacije se mogu javiti u vidu meningitisa, encefalopatija, endokarditisa, apcsa, infekcija urinarnog trakta, osteomijelitisa, celulitisa i artritisa (Shimoni i sar., 1999; Arii, i sar., 2002; Fisker i sar., 2003; Sánchez-Vargas i sar., 2011). Kliconoštvo kod netifoidnog oblika salmoneloze traje mnogo kraće nego kod tifoidnog oblika u proseku četiri do pet nedelja. Period kliconoštva zavisi od serovarijeteta, ali i starosti jedinke. Istraživanja pokazuju da oko 90% osoba koje su bili inficirani *S. Typhimurium* nakon devet nedelja ne izlučuju ovu bakteriju, dok je kod serovarijeteta *S. Panama*, *S. Muenchen* i *S. Newport* kod 20% jedinki zabeleženo kliconoštvo i nakon 20 nedelja od bolesti (Riemann i Cliver, 2006). Ipak hronično kliconoštvo nakon preboljenja netifoidnog oblika salmoneloze je retko i javlja se samo u 0,1-1% slučajeva (Sánchez-Vargas i sar., 2011).

### **2.1.11. Lečenje infekcije**

U cilju lečenja gastroenteritisa izazvanog *Salmonella* spp. prevashodno se koristi simptomatska terapija koja podrazumeva pre svega nadoknadu tečnosti i elektrolita i kontrolu mučnine i povraćanja (Cliver i Riemann, 2002). Kod netifoidnog oblika salmoneloze sa simptomima gastroenteritisa bez komplikacija nije indikovano koristiti antibiotsku terapiju pošto je to u najvećem broju samolimitirajuće oboljenje koje spontano prolazi. Takođe upotreba antibiotika može izazvati neželjene efekte i produžiti period kliconoštva. Ipak terapija treba da se sprovodi kod sistemske salmoneloze, komplikacija i rizične grupe pacijenata, kao što su novorođenčad, osobe starije od 50 godina, osobe sa kompromitovanim imunskim sisitemom i pacijenti sa vaskularnim anomalijama, prostetičkim zaliscima i graftovima. Ukoliko je upotreba antibiotika neophodna fluorohinoloni se koriste kao lek izbora, dok alternativu predstavljaju azitromicin, cefalosporini, trimetoprim-sulfametoksazol i ampicilin. U slučaju bakterijemije preporučuje se intravenozna aplikacija cefalosporina treće generacije u periodu od 7 do 14 dana. Lokalizovane (npr. apces) i endovaskularne infekcije zahtevaju hirurški tretman (Cliver i Riemann, 2002; Riemann i Cliver, 2006; Gordon, 2008; Sánchez-Vargas i sar., 2011).

Fluorohinoloni su antibiotik izbora i prilikom lečenja tifoidne groznice. Najčešće se koriste ciprofloksacin, gatifloksacin, levofloxacin ili ofloksacin u toku 5 do 7 dana. Alternativni antibiotici koji se koriste u terapeutiske svrhe su hloramfenikol, amoksicilin i trimetoprim-sulfametoksazol. Klicnoše se tretiraju amoksicilinom ili ampicilinom u kombinaciji sa probenecidom, trimetoprim-sulfametoksazolom ili ciprafloksacinom, pre svega kod dece i starih osoba. Antibiotici se u ovom slučaju piju tokom nekoliko meseci, a u određenim slučajevima neophodna je i holecistektomija naročito ukoliko su prisutni holeliti (WHO, 2003; Pegues i sar., 2005; Sánchez-Vargas i sar., 2011).

### **2.1.12. Rezistencija *Salmonella* spp. na antibiotike**

Česta upotreba antibiotika, kako u humanoj tako i u veterinarskoj medicini, rezultirala je pojavom rezistencije na različite antimikrobne lekove kod *Salmonella* i drugih bakterija (Doyle i sar., 2006; Hayouni i sar., 2008; Newell i sar., 2010; Bošković i sar., 2013b). Hrana ima poseban značaj u prenosu rezistentnih *Salmonella* spp.. Smatra se da je put prenosa rezistentnih mikroorganizama povezan sa upotrebom antibiotika na farmama i da se sa životinja za klanje prenose u meso koje na taj način predstavlja potencijalni izvor za ljudе (EFSA, 2006; Doyle i sar., 2006; Newell i sar., 2010). Podaci ukazuju i na životinje kao prenosioce netifoidnih serovarijeteta *Salmonella* spp. koji se mogu preneti ne samo putem hrane već i direktnim kontaktom (Newell i sar., 2010).

Poslednjih godina, rastući problem na globalnom nivou predstavlja povećana prevalencija *Salmonella* spp. koje su rezistentne na više antibiotika od kojih su najznačajniji fluorohinoloni i cefalosporini treće generacije (Brands i sar., 2005; Chao i sar., 2007; Chen i sar., 2007; Gebreyes i Thakur, 2005; Hur i sar., 2012). Multirezistencija na antibiotike detektovana je kod velikog broja serovarijeteta među kojim su i *S. Agona*, *S. Anatum*, *S. Choleraesuis*, *S. Derby*, *S. Dublin*, *S. Heidelberg*, *S. Kentucky*, *S. Pullorum*, *S. Schwarzengrund*, *S. Senftenberg*, *S. Typhimurium*, *S. Uganda*, a sve veći problem predstavlja učestalost detekcije multirezistentnih serovarijeteta *S. Typhimurium* i *S. Newport* (Chen i sar., 2004; Gebreyes i Thakur, 2005; Gebreyes i sar., 2004; Pan i sar., 2009; Zhao i sar., 2008; Hur i sar., 2012). Zabeležena je rezistencija *Salmonella* Typhimurium DT104, R-tip ACSSuT na ampicilin, hloramfenikol, streptomycin, sulfametoksazol i tetraciklin, a u sve većem broju se izoluje *Salmonella* Newport R-tip MDR-Amp C soj koji je rezistentan na čak devet antimikrobnih lekova (ampicilin, hloramfenikol, streptomycin, sulfametoksazol, tetraciklin, amoksicilin-klavulonska kiselina, cefalotin, cefoksitin, ceftiofur). Veoma

zabrinjavajuća je i povećana otpornost *Salmonella* spp. na ceftriakson, pa se javlja bojazan da će u skorijoj budućnosti doći do rezistencije na ovaj cefalosporin koji predstavlja jedan od lekova izbora u lečenju salmoneloze (IFT, 2006; Sofos, 2008). Kao posledica rezistencije bakterija iz roda *Salmonella* javlja se porast broja neuspešnih tretmana, pojava ozbiljnih infekcija sa tendencijom produžavanja toka bolesti i generalizacijom procesa, porast broja hospitalizovanih slučajeva oboljenja i porast mortaliteta (Newell i sar., 2010; Bošković i sar., 2013b).

### **2.1.13. Kontrola i prevencija pojave salmoneloze**

#### **2.1.13.1. Kontrola i prevencija *Salmonella* spp. u primarnoj proizvodnji svinjskog mesa**

#### **2.1.13.2. Kontrola *Salmonella* spp. na farmi svinja**

Cilj kontrole *Salmonella* spp. na farmama ogleda se u prevenciji ulaza ovog patogenog mikroorganizma u zapat, prevenciji njegovog širenja u okviru zapata, kao i smanjenju pojave oboljenje i kliconoštva u okviru inficiranog zapata (Hald, 2013).

Postoji veliki broj faktora poput vrste hrane, higijenske prakse, prisustva infekcija, veličine zapata, kontakta među jedinkama, vrste poda, upotrebe antibiotika i drugih koji doprinose unosu i perzistiranju *Salmonella* spp. na farmama svinja, a kao izvori infekcije svinja najčešće se pominju hrana i ambijent (Hurd i sar., 2001; Fosse i sar., 2009; Rostagno i Callaway, 2012).

U zemljama kod kojih je prevalencija *Salmonella* spp. na farmama svinja niska kontaminirana hrana predstavlja glavni način unosa ovog patogenog mikroorganizma u zapat (Häggblom, 2009). Način da se prevenira kontaminacija hrane jeste da se peletiranje obavlja pri temperaturama od 93 °C i 15% vlažnosti vazduha u toku 90 s. Ipak u praksi se ovo retko radi pre svega zbog ekonomskih troškova usled utroška električne energije a i da ne bi došlo do denaturacije vitamina i drugih nutritijenata (Peisker, 2006; De Busser i sar., 2013). Čak i posle temperaturnog tretmana u toku daljeg postupanja sa hranom može doći do rekontaminacije sa *Salmonella* spp.. Od hemijskih supstanci za eliminaciju *Salmonella* spp. iz hrane za životinje koriste se organske kiseline i njihove soli, formaldehid i materije koje deluju na zid bakterijske ćelije kao što su terpeni i etarska ulja (De Busser i sar., 2013). Oblik hrane takođe utiče na prevalenciju *Salmonella* spp., pa su tako rezultati ispitivanja pokazali da ishrana nepeletiranom hranom kod svinja u završnoj fazi tova rezultira nižima nivoom

seropozitivnih jedinki u poređenju sa ishranom paletiranom hranom (Lo Fo Wong i sar., 2004).

Loše biosigurnosne mere, čišćenje i dezinfekcija predstavljaju faktore rizika od pojave i širenja *Salmonella enterica* na farmi svinja (Fosse i sar., 2009). Da bi se *Salmonella* spp. uklonile iz zapata čišćenje i dezinfekcija često nisu dovoljni. Većina dezifikacijentnih sredstava koja sadrže natrijum hipohlorit ili kvaternarna amonijumova jedinjenja mogu da inaktivisu i redukuju br. *Salmonella* spp., međutim, njihova efiksnost se smanjuje ukoliko se ne doziraju na pravilan način u propisanoj dozi, ako se ne poštuje vreme delovanja ili su prisutne organske naslage kao posledica lošeg mehaničkog čišćenja (De Busser i sar., 2013). Period između turnusa treba biti iskorišćen za detaljno čišćenje i uklanjanje mehaničkih nečistoća, dezinfekciju i sušenje, prilikom koga se ako je potebno treba koristiti i dodatna ventilacija i grejanje (Bode i sar., 2007; De Busser i sar., 2013). S obzirom na to da glodari i insekti predstavljaju rezervoare i vektore u prenosu *Salmonella* spp., dezinsenkcija i deratizacija predstavljaju bitne činioce u kontroli ove bakterije na farmama svinja (EFSA, 2006).

Eksperimenti su pokazali da prisustvo infekcija uzrokovanih bakterijom *Lawsonia intracellularis* ili pojava reproduktivno respiratornog sindroma svinja doprinose većoj pojavi *Salmonella* spp. u zapatu svinja (Moller i sar., 1998; Wills i sar., 2000; Rostagno i Callaway, 2012).

U cilju prevencije salmoneloze svinja može se koristiti i vakcinacija. Za razliku od vakcina sa inaktivisanim serovarijetetima *Salmonella* spp. koji nemaju mogućnost odgovarajuće indukcije celularnog imunog odgovora, vakcine sa atenuiranim živim bakterijama daju bolju zaštitu jer pored celularnog imuniteta aktiviraju i produkciju lokalnih IgA. Ipak postoje problemi i nedostaci upotrebe živih vakcina u pogledu prevelike atenuacije koja kao posledicu može imati neefikasnu vakcinu, ali nedovoljne atenuacije koja može rezultirati povratkom virulencije bakterije, ali i desiminacije vakcinalnog soja u spoljašnju sredinu putem ekskreta vakcinisanih životinja (Leyman, 2012; De Busser i sar., 2013). U Evropi samo je jedna živa vakcina *S. Typhimurium* komercijalno dostupna i aplikuje se krmačama subkutano 6 nedelja pre partusa, revakcinacija se obavlja 3 nedelje pre partusa, dok se prasadima aplikuje oralno 3 dana nakon rođenja i 3 nedelje nakon prve aplikacije (Lindner i sar., 2007). Rezultati ispitivanja su pokazali da primena ove vakcine smanjuje kolonizaciju digestivnog trakta i izlučivanje *Salmonella* spp. i istovremeno indukuje značajan imuni odgovor (Selke i sar., 2007; Eddicks i sar., 2009; De Busser i sar., 2013). Efikasna vakcinacija može biti korisna u kontroli *Salmonella* spp. na farmi, međutim, može ometati tumačenje rezultata seroloških testova tokom monitoringa (Hald, 2010).

Mišljenja o preventivnoj upotrebi antibiotika su različita, pa jedni autori samraju da upotreba antibiotika tokom perioda tova povećava izlučivanje *Salmonella* spp., dok rezultati drugih istraživanja pokazuju da je prevalencija *Salmonella* spp. viša u zapatima koja ne koriste antibiotike od onih koja koriste (Gebreyes i sar., 2006; Rossel i sar., 2006; Fosse i sar., 2009).

### **2.1.13.3. Kontrola *Salmonella* spp. prilikom transporta svinja u klanici**

Stres tokom transporta i boravka u stočnom depou, ne samo što utiče na dobrobit životinja i kvalitet mesa, već utiče i na povećano izlučivanje broja *Salmonella* spp. kod životinja za klanje koje su latentne kliconoše i na taj način omogućava prenos ovih bakterija na životinje koje nisu inficirane (Hurd i sar., 2001; Fosse i sar., 2009; Rostagno i Callaway, 2012).

Tokom transporta faktori stresa deluju prilikom utovara, transporat i istovara, a rizični faktori su grub postupak sa životnjama, loš put, dug period transporta, loši vremenski uslovi i pretrpanosti transportnog sredstva. Ukidanje hrane pre klanja takođe predstavlja faktor stresa, a istraživanja pokazuju da ukidanje hrane u periodu dužem od 18 h dovodi do agresivnog ponašanja svinja (De Busser i sar., 2013). Takođe sa porastom perioda gladovanja menja se mikroflora digestivnog trakta u korist *Enterobacteriaceae* čiji se broj povećava u cekumu uz istovremeno povećanje broja *Salmonella* spp. izlučenih fecesom (Martín-Peláez i sar., 2009). Neophodno je da transportno vozilo bude dobro očišćeno i dezinfikovano (De Busser i sar., 2013).

Boravak svinja u stočnom depou može biti olakšano dobrom infrastrukturom (dugački i široki boksevi sa ulazom na jednom i izlazu na drugom kraju, velikim brojem krivina u hodniku i dr.), kao i pažljivim postupcima sa njima. Kontakt sa ljudima se može smanjiti upotreborom automatskih vrata. Agresivnost i borbe među svinjama se mogu sprečiti smeštanjem svinja u manje grupe. Ipak sve mere dobrobiti u cilju sprečavanja stesa nisu dovoljne za prevenciju salmoneloze ukoliko su *Salmonella* spp. prisutne u neposrednom okruženju, zbog čega se veliki značaj pridaje efektivnom čišćenju i dezinfekciji depoa (De Busser i sar., 2013). Podaci istraživanja pokazuju da je broj *Salmonella* spp. manji kod životinja koje se kolju odmah nakon istovara ili posle boravka od 1,5 h u stočnom depou u poređenju sa svinjama koje u stočnom depou provode duži vremenski period (Larsen i sar., 2004; Rostagno i sar., 2005).

U toku klanja postoji više operacija koje imaju za cilj smanjenje broja bakterija, međutim, ujedno mogu predstavljati i kritične tačke prilikom kojih dolazi do kontaminacije i kroskontaminacije trupova (De Busser i sar., 2013).

Kod svinja se nakon klanja ne uklanja koža, već se ona nakon šurenja i uklanjanja čekinja smatra jestivom, pa je veoma bitno voditi računa o mikrobiološkoj kontaminaciji s obzirom da se u prljavštini na koži mogu naći *Salmonella* spp.. Prilikom šurenja svinjskih trupova temperature vode je oko 62 °C i ima ulogu u redukciji i eliminaciji patogenih bakterija uključujući *Salmonella* spp.. Ipak ovaj patogen mikroorganizam je izolovan iz vode za šurenje u 0-5,6% slučajeva (Bunčić i Sofos, 2012). Uzrok ovome mogu biti velika količina prljavštine i organske materije prisutne na koži svinja, nedovoljno visoka temperatura kao i nepravilno menjanje vode za šurenje (Bunčić i Sofos, 2012; De Busser i sar., 2013). Pored toga prljava voda može dospeti u pluća što se može sprečiti stavljanjem odgovarajućih čepova u traheju. Vertikalno šurenje vrelom parom ili sprejom predstavlja alternativu klasičnom potapanju trupova u bazene i može sprečiti kontaminaciju trupova *Salmonella* spp. (Bunčić i Sofos, 2012).

Nakon šurenja svinjama se uklanjaju čekinje u mašini sa rotirajućim gumenim „prstima” koja prska trup vrelom vodom. Tokom ovog procesa koža se često kontaminira *Salmonella* spp., a kao glavni razlozi tome navode se istiskanje fekalnog sadržaja kroz anus, nedovoljno visoka temperatura vode za prskanje i bakterijska proliferacija u okviru nasлага koje su zaostale u mašini. Kontrolne mere u toku ove operacije mogu biti zatvaranje anusa i pravilno i detaljno čišćenje mašine (Purnell i sar., 2010; Bunčić i Sofos, 2012).

Mašina za čupanje ne može otkloniti sve čekinje, pa se trupovi opaljuju pri temperaturama od 1300-1500 °C što rezultira eliminacijom bakterija u značajnom procentu. Ipak *Salmonella* spp. mogu ostati vitalne u kožnim naborima, bazi uva i folikulima dlake, pa se prepotičuje da se prilikom opaljivanja posebno obrati pažnja na ova mesta.

Ostaci spaljenih čekinja se uklanjaju mašinom za poliranje sa rotirajućim četkama ili metalnim sečivima i tokom ovog procesa dolazi do rekontaminacije *Salmonella* spp. zbog čega opremu treba čistiti i dezinfikovati detaljno na pravilan način (Bunčić i Sofos, 2012; De Busser i sar., 2013).

Evisceracija predstavlja operaciju koja je ključna za kontaminaciju trupova intestinalnim sadržajem koji sadrži *Salmonella* spp. (Bunčić i Sofos, 2012). Prema literaturnim podacima 55-90% kontaminacije trupova dogodi se tokom evisceracije (De Busser i sar., 2013). Kao mere kontrole na anus se stavljuju plastične kese i koriste noževi sa okruglim sečivima (Alban i Stärk, 2005; Bunčić i Sofos, 2012). Do unakrsne kontaminacije trupova može doći i tokom uklanjanja jezika, na kome se često nalaze *Salmonella* spp. i curenjem vode za šurenje u koja je prethodno kontaminirana ovom bakterijom, zbog čega se jezik može ostaviti u nepodeljenoj glavi, a prilikom rasecanja paziti da ne dođe do rupture pleure (Bunčić i Sofos,

2012). Da ne bi došlo do unakrsne kontaminacije prilikom evisceracije neophodno je noževe sterilisati u vreloj vodi na 82 °C, redovno prati ruke i nositi rukavice (Bunčić i Sofos, 2012; De Busser i sar., 2013).

Iako se ne smatra da predstavlja bitan faktor u kontaminaciji trupa neophodno je voditi računa o načinu i učestalosti sterilizacije i čišćenja motorne testere koja se koristi za presecanje trupa na polutke (Bunčić i Sofos, 2012).

Trenutno nema dovoljno podataka u literaturi o dekontaminaciji svinjskih trupova, ali rezultati jednog ispitivanja pokazuju da 2% mlečna kiselina može redukovati br. *Salmonella* spp. na svinjskim trupovima (Larsen i sar., 2003). Dalja istraživanja će pokazati da li će kao kod drugih vrsta životinja biti moguće sprovoditi dekontaminaciju svinjskih trupova organskim kiselinama i vrelom (80–85 °C) vodom ili vodenom parom (Bunčić i Sofos, 2012).

Temperatura hlađenja od  $\leq 7$  °C tokom 24 h uspešno prevenira rast *Salmonella* spp.. (Savell i sar., 2004). Glavne kontrolne mere tokom procesa hlađenja podrazumevaju konstantan monitoring temperature, razmaka između trupova i čišćenje i dezinfekciju šina i površina u prostorijama za hlađenje (Bunčić i Sofos, 2012).

#### **2.1.13.4. Kontrola *Salmonella* spp. u mesu i proizvodima od mesa**

Do kontaminacija mesa sa *Salmonella* spp. može doći u klanicama, fabrikama za preradu mesa, u toku transporta i skladištenja ili unakrsnom kontaminacijom do koje može doći u bilo kom trenutku, od trenutka klanja do stavljanja mesa u maloprodaju ili čuvanja i pripreme mesa u domaćinstvima (Ricke i sar., 2013). Postoji veliki broj hemijskih i fizičkih metoda čijim sprovođenjem se u toku ili nakon prerade mesa eliminiše ili smanjuje broj patogenih mikroorganizama, uključujući i *Salmonella* spp. u krajnjem proizvodu.

Organske kiselinske kiseline se često koriste u redukciji broja patogenih mikroorganizama u mesu. Slabe kiseline deluju kao nenaelektrisani molekuli koji lako prolaze kroz membranu bakterijske ćelije u kojoj je pH vrednost viša zbog čega molekuli kiseline otpuštaju protone koji nakon toga mogu izazvati rupturu ćelijske membrane, dovesti do narušavanja pH homeostaze ili promena u metabolizmu bakterijske ćelije. Organske kiseline takođe deluju na taj način što stavaraju nepovoljnu sredinu za rast bakterija (Mani-López i sar, 2012; Baer i sar., 2013). Rezultati istraživanja pokazuju da upotreba persičetne i mlečne kiseline redukuju broj *Salmonella* spp. na trupovima za 50% odnosno 66%. (Reynolds 2003). Iako upotreba organskih kiselina redukuje broj patogenih mikroorganizama smatra se da njihov učinak na koži trupa sa kožom kod svinja nije veći od onog koji se postiže upotrebom vrele vode. Ipak

tretman organskim kiselinama u kombinaciji sa pranjem vrelom vodom značajno smanjuje broj bakterija kod trupova svinja kod kojih se skida koža (Baer i sar., 2013). Organske kiseline su se pokazale efikasno i pri upotrebi na rasečenim delovima svinjskog tupa. Pored pomenutih na mesu i proizvodu od mesa se koristi veliki broj kiselina poput limunske, propionske, cílibarne, vinske, jabučne kiseline, pri čemu su sirćetna i propionska veoma efikasne u smanjenju broja *Salmonella* spp. dok druge poput limunske omogućavaju njihov rast pri pH 5 (Mani-López i sar., 2012; Baer i sar., 2013; Ricke i sar., 2013). Za dekontaminaciju trupova živine i goveda koristi se i hlor. Primena ozona se pokazala kao efikasna za dekontaminaciju, međutim, ozon može dovesti do oksidacije pigmenata mesa i pojave užeglosti (Chen, i sar., 2012). Od drugih hemiskih supstanci za dekontaminaciju mesa koriste se i fosfati, kvaternerna amonijumova jedinjenja, glutaraldehydi i sorbati (Ricke i sar., 2013).

Od fizičkih metoda pored termičke obrade, ionizujuće zračenje se pokazalo veoma efikasnim u inhibiciji i redukciji patogena u mesu i proizvodima od mesa (Aymerich i sar., 2008). Za proizvodnju gama zraka najčešće se koriste radionukleotidi Cs 137 i Co 60, koji se u industriji češće koristi jer proizvodi jače zračenje i ne rastvara se u vodi (Ahn i sar., 2006). Koja će se doza zračenja koristiti pre svega zavisi od vrste patogena. Istraživanja pokazuju da je doza od 3-5 kGy dovoljna za redukciju 3-5 log *Salmonella* spp. u zamrznutom pilećem mesu, dok je za ohlađeno meso dovoljna doza od 1,5-2,5 kGy (Chen i sar., 2012). Zračenje je metoda kojom se omogućava održavanje svežine i nutritivnih karakteristika, mada može dovesti do lipidne peroksidacije lipida iz mesa, promena boje ili senzornih osobina mesa, a prema nekim podacima i da smanjuje količinu tiamina u mesu (Ahn i sar., 2006; Aymerich i sar., 2008; Chen i sar., 2012). U Sjedinjenim Američkim Državama ionizujuće zračenje je dozvoljena metoda za dekontaminaciju hrane, ali doze zračenja su strogo regulisane od strane Agencije za hranu i lekove (FDA- Food and Drug Administration). Doza zračenja za ohlađeno crveno meso je ograničena na 4,5 kGy, za zamrznuto meso 7 kGy i za pileće meso 3 kGy (Chen i sar., 2012). U EU jedine kategorije hrane kod kojih je dozvoljena upotreba zračenja su osušene aromatične biljke, začini i začinsko povrće (Chen i sar., 2012). Vakuum pakovanje i pakovanje u modifikovanoj atmosferi pored toga što utiče na podruženje održivosti proizvoda, utiče i na redukciju patogenih mikroorganizama uključujući *Salmonella* spp., a njihova efikasnost uglavnom zavisi od koncentracije i mešavine upotrebljenih gasova, hemijskog sastava namirnice, otpornosti samog mikroorganizma (Chen i sar., 2012; Provincial i sar., 2013). Upotreba visokog hidrostatskog pritiska je metoda prilikom koje se zapakovana hrana smešta u posudu na koje deluje voda pod pritiskom od 100 do 900 MPa

(Aymerich i sar., 2008). Danas veliki broj kompanija širom sveta koristi ovu tehnologiju na mesu i proizvodima od mesa. Veliki broj istraživanja sproveđen na kuvanoj šunci, pršuti, jelima sa čurećim i pilećim mesom, delikatesima, pilećim i svinjskim mesom, mortadelom, slaninom, salamom i drugim dimljenim i nedimljenim kobasicama u cilju inaktivacije i redukcije patogenih mikroorganizama uključujući i *Salmonella* spp. U najvećem broju slučajeva dobar rezultat dobijen je pri izlaganju proizvoda pritisku od 600 MPa tokom 2-10 min (Aymerich i sar., 2008). Upotrebu ultravioletnog zračenja u cilju dekontaminacije hrane i površina koje dolaze u kontakt sa hranom odobrila je Agencija za hranu i lekove SAD-a. UV svetlost deluje na bakterijsku ćeliju na taj način što vrši dimerizaciju timinskih baza u DNA lancu sprečavajući na taj način replikaciju, dok neki autori smatraju da se usled pregrevanja oštećuje membrana bakterijske ćelije (Mukhopadhyay i Ramaswamy, 2012). Rezultati ispitivanja pokazali su da UV svetlost talasne dužine 254 nm ima efekat u redukciji broja *S. Senftenberg* na svinjskoj koži i mišićima (Wong i sar., 1998). Kao fizičke metode, čija upotreba u industriji hrane u cilju redukcije patogenih mikroorganizama obećava ali je još u fazi ispitivanja, pominju se pulsno električno polje, čije se dejstvo zasniva na kratkim visokovoltažnim udarima, pulsno svetlo, pod kojim se podrazumeva kratkotrajna aplikacija zraka talasne dužine od 170 do 2600 nm, ultrazvučna tehnologija frekvencije 20 do 100 kHz koja oštećuje ćelijsku membranu i DNK bakterijske ćelije, oscilirajuće magnetno polje koje oštećuje patogene mikroorganizme na taj način što slabi veze između jona i proteina (npr. joni Ca i kalmodulin) i aplikovanje CO<sub>2</sub> pod visokim pritiskom od 50 MPa (Juneja 2003; Damar i Balaban, 2006; Zhou i sar., 2010; Chen i sar., 2012; Mukhopadhyay i Ramaswamy, 2012).

Osim fizičkih i hemijskih metoda i biološki agensi kao što su bakteriofagi i bakteriocini mogu se koristiti za kontrolisanje patogenih mikroorganizama uključujući i *Salmonella* spp., a poslednjih godina sve veći broj istraživanja se sprovode u cilju dokazivanja antimikrobnog efekata biljnih ekstrakata, pre svega etarskih ulja (Chen, i sar., 2012; Ricke i sar., 2013).

Ipak i pored svih metoda prevencije, kontrole i dekontaminacije pre, tokom i nakon proizvodnje mesa u cilju eliminacije *Salmonella* spp., imperativ predstavlja informisanje potrošača, kao poslednje karike u lancu proizvodnje i potrošnje, o riziku i načinima prevencije pojave trovanja u kućnim uslovima. U skladu sa preporukama centra za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC) i USDA-FSIS (U.S. Department of Agriculture Food Safety Inspection Service) potrošačima se savetuje da pripremaju meso na preporučenim temperaturama od bar 62 °C za meso ribe, svinjsko, goveđe, ovčije meso i 74 °C za meso živine, izbegavaju konzumiranje sirovog i polusirovog mesa, spreče unakrsnu kontaminaciju

tako što će pravilno skladištiti ostatke hrane u frižider i odvajati sirovo meso od spremnjene tokom čuvanja. Potrošači takođe treba da vode računa o ličnoj higijeni, kao i higijeni površina, posuda i pribora koje koriste za pripremu, odlaganje i konzumiranje hrane (Ricke i sar., 2013).

Kombinacijom svih preporučenih mera kontrole i prevencije pre, u toku i nakon proizvodnje mesa smanjuje se rizik od izlaganja ljudi *Salmonella* spp. i pojave trovanja, a samim tim smanjuju se i medicinski troškovi za lečenje salmoneloze (Ricke i sar., 2013).

## **2.2. Svinjsko meso**

### **2.2.1. Proizvodnja svinjskog mesa**

U crveno meso pored goveđeg, ovčijeg i crvenog mesa živine, spada i svinjsko meso koje se proizvodi svuda u svetu uz izuzetak nekih regionalnih regiona u kojima se ovo meso ne konzumira iz kulturoloških i religioznih razloga (Bonne i Verbeke, 2008; McNeill i Van Elswyk, 2012; Cosgrove i sar., 2005). Prema statističkim podacima iz 2014. godine (FAOSTAT), proizvodnja mesa u svetu tokom 2011. godine iznosila je 298 871 hiljade tona. U Evropi i Centralnoj Aziji u odnosu na podatke za 2010. godinu zabeležen je porast proizvodnje mesa od 4%. U ovom regionu ukupna proizvodnja mesa 2011. godine dostigla je skoro 64 miliona tona, od čega je 44% činilo meso svinja, 33% meso živine, 21% goveđe meso i 3% meso ovaca i koza. Pored toga što predstavlja najviše konzumiranu vrstu mesa, zajedno sa mesom živine proizvodnja svinjskog mesa beleži i najveći rast, kako u Evropi i Centralnoj Aziji tako i na globalnom nivou. Neke zemlje Evropske Unije, kao što su Nemačka, Španija, Danska, Belgija i Italija, više od decenije beleže porast proizvodnje svinjskog mesa od 1,2% godišnje (FAO, 2014). Tokom 2011. godine proizvodnja svinjskog mesa u svetu bila je 110 270 hiljada tona sa stopom rasta od 2,6% u periodu od 2000 do 2011. godine, dok je u Srbiji obim proizvodnje bio 271 000 tona, što je za 2 000 tona više u odnosu na proizvodnju u 2010. godini (FAO, 2013; FAO, 2014).

### **2.2.2. Hemijski sastav svinjskog mesa i značaj svinjskog mesa u ishrani ljudi**

Smatra se da je konzumiranje mesa, naročito crvenog mesa predstavljalo prekretnicu u ljudskoj ishrani i imalo značajan uticaj u ljudskoj evoluciji (Pereira i Vicente, 2013). Upotreba mesa u ishrani doprinela je razvijanju gastrointestinalnog trakta, imala je ključnu ulogu u razvoju kranio-dentalnih karakteristika, stava tela i drugih osobina koje su uticale na

odvajanje čoveka od drugih hominida i od tada predstavlja značajan izvor makro i mikro nutritijenata esencijalnih za optimalan rast i razviće (Higgs, 2000; Pereira i Vicente, 2013).

### **2.2.2.1. Proteini**

Proteini koji se unose putem hrane neophodni su za rast, razvoj, obnovu organizma i obezbeđivanje energije (Wyness i sar., 2011). Meso predstavlja značajan izvor biološki vrednih proteina (Higgs, 2000; Pereira i Vicente, 2013; Bošković i sar., 2015). Crveno meso u 100g sadrži oko 20-24g proteina u sirovom stanju ili 27-35g u termički obrađenom (Wyness i sar., 2011). Meso sadrži osam esencijalnih amino kiselina neophodnih u ljudskoj ishrani i histidin za koji se smatra da predstavlja dodatnu esencijalnu amino kiselinsku decu u razvoju (Higgs, 2000; Wyness i sar., 2011). Esencijalne amino kiseline imaju ulogu u regeneraciji mišićnog tkiva nakon nekih povreda ili hirurških zahvata (Higgs, 2000). Kod starijih ljudi kombinacija proteina i mikroelemenata poreklom iz crvenog mesa može da redukuje pojavu sarkopenije koja predstavlja degenerativni gubitak mišićne mase (McNeill i Van Elswyk, 2012). Glad u zemljama u razvoju predstavlja izuzetan problem i podaci pokazuju da pothranjenost usled nedostatka proteina u ishrani čini 49% od 10.4 miliona smrti kod dece ispod pet godina (WHO, 2004; FAO, 2011). Procenjuje se da trećina dece ispod pet godina u svetu gladuje što potrebu za mesom u zemljama u razvoju čini još drastičnijom i ukazuje na značaj mesa u održavanju zdravlja (UNICEF, 2007).

### **2.2.2.2. Masti**

I pored toga što je tendencija usmerena na proizvodnju mesa sa što manjim procentom masti, mast i dalje predstavlja važan činilac u proceni kvaliteta mesa, a njena količina i sastav utiču na čvrstinu i ukus mesa (Forrest i sar., 1975; Wood i sar., 1999; Webb, 2006; Webb i O'neill, 2008). Iako količina masti varira u zavisnosti od uglavnog genetskih predispozicija vrste i rase, kao i načina ishrane, više istraživanja je pokazalo da meso svinja ima manji sadržaj masti nego ovčije i goveđe meso (Enser i sar., 1996; Cosgrove i sar., 2005). Masti ne samo što obezbeđuju metaboličku energiju već imaju ulogu u produkciji fosfolipida koji su bitni u održavanju strukture ćelijskih membrana (Webb i O'neill, 2008). Kao i količina masti i masno-kiselinski sastav zavisi od načina ishrane, gajenja i rase (Ivanović i sar., 2012). Masne kiseline mogu biti zasićene ukoliko sadrže samo jednostrukе veze između ugljenikovih atoma tj. ukoliko su sve dostupne veze popunjene drugim atomima, mononezasićene, ukoliko imaju jednu dvostruku vezu i polinezasićene ukoliko imaju više od jedne dvostrukе veze (IUPAC,

1978; Campbell, 1995; Webb i O’neill, 2008; Ivanović i sar., 2012). Naročiti značaj u ishrani imaju n-3 i n-6 masne kiseline koje u organizmu ljudi ne mogu biti sintetisane *de novo* i predstavljaju esencijalne masne kiseline. Najbitnije esencijalne masne kiseline koje sadrže 20 ugljenikovih atoma su arahidonska i eikozapentaenoična kiselina i one se u značajnim količinama mogu naći samo u mesu, ribi i ribljem ulju (Smith, 2007; Webb i O’neill, 2008). Svinjska mast predstavlja važan izvor linolne kiseline i čini 6-12% masno kiselinskog sastava što je više nego u goveđem (2-3%) i ovčjem loju (2,5-4%) (Ivanović i sar., 2012). Linoleinska i arahidonska kiselina takođe se nalaze u višim koncentracijama u svinjskoj masti nego u mastima i loju drugih vrsta životinja, ali i više nego u intermuskularnoj masti (Wood i sar., 2008; Ivanović i sar., 2012). Dekozahexaenoična kiselina je polinezasićena masna kiselina koja je esencijalna za razvoj CNS-a kod novorođenčadi i istraživanja su pokazala da je nivo ove kiseline u mleku majki koje su vegani drastično niži u poređenju sa majkama koje koriste meso u ishrani (Higgs, 2000). Mononezasićena masna kiselina koja je najzastupljenija u svinjskom mesu i masnom tkivu je oleinska kiselina (40%) (Higgs, 2000; Ivanović i sar., 2012). Ukoliko se meso u ishrani zameni sa mlečnim proizvodima koji sadrže male količine mononezasićenih masnih kiselina došlo bi do još većeg disbalansa između masnih kiselina u korist miristinske kiseline koja se smatra veoma štetnom (Higgs, 2000). Pored nezasićenih bitno je pomenuti i zasićene masne kiseline zbog kojih se uglavnom meso smatra nezdravim, iako je u odnosu na prethodni period kada je formirano ovakvo mišljenje njihova količina smanjena (Higgs, 2000). Svinjsko meso sadrži oko 41% zasićenih masnih kiselina u odnosu na 59% polinezasićenih i mononezasićenih masnih kiselina (Ivanović i sar., 2012). Sa kvantitativnog aspekta istraživanja su pokazala da nivo holesterola nije drastično viši kod masnog mesa i proizvoda od mesa u poređenju sa mesom koje ima manji sadržaj masti, a razlog ovakvih rezultata se ogleda u činjenici da se holesterol nalazi u ćelijskoj membrani i da njegova količina zavisi od broja mišićnih vlakana (Chizzolini i sar., 1999. Higgs, 2000). Takođe svinjsko meso sadrži manju količinu holesterola (60mg/100g) u poređenju sa goveđim i ovčijim mesom (70mg/100g) (Ivanović i sar., 2012). Umerena upotreba svinjskog mesa u ishrani može redukovati nivo LDL holesterola kod zdravih jedinki i neki autori predlažu korišćenje ove vrste mesa kao sastavni deo terapeutske dijete (Rubio i sar., 2006).

### **2.2.2.3. Vitamini i minerali**

Gvožđe je metal neophodan za formiranje hemoglobina u eritrocitima, učestvuje u velikom broju hemijskih reakcija, potreban je za održavanje normalnog energetskog metabolizma i ima značajnu ulogu u održavanju imuniteta (Wyness i sar., 2011). Deficijencija gvožđa predstavlja najčešći poremećaj širom sveta i zahvata populaciju kako zemalja u razvoju tako i populaciju razvijenih zemalja (WHO, 2012). Rezultati istraživanja su pokazala da su apsorpcija i bioiskoristivost mineralnih materija, pre svega gvožđa i cinka poreklom iz crvenog mesa veće od apsorpcije i bioiskoristivosti istih minerala iz izvora biljnog porekla (Etcheverry i sar., 2006; McNeill i Van Elswyk, 2012), a ESPGHAN Komitet o ishrani preporučio je upotrebu mesa kao dobrog izvora gvožđa koje upotpunjava ishranu dece i podržava njihov kognitivni razvoj (Agostoni i sar., 2008; McNeill i Van Elswyk, 2012). Crveno meso, uključujući i svinjsko meso je bogat izvor cinka, koji je esencijalan za rast i razvoj ćelije, reparaciju tkiva, a ima i ulogu u reproduktivnom razvoju i održavanju imuniteta (Biesalski, 2005; Wyness i sar., 2011). Osim gvožđa i cinka crveno meso predstavlja i bogat izvor drugih mikroelemenata kao što su magnezijum, bakar, fosfor, kobalt. Mada se crveno meso smatra izvorom selena koji ima antioksidativnu ulogu i neophodan je u održavanju imuniteta bitno je pomenuti da njegova koncentracija u mesu zavisi od ishrane životinja (Wyness i sar., 2011). Iako mast ne sadrži vitamine i mineralne materije, n-3 i n-6 polinezasičene kiseline neophodne su u ishrani jer imaju ulogu nosača liposolubnih vitaminina (vitamin A, D, E i K) (Webb i O’neill, 2008). Crveno meso je bogato i vitaminima B grupe, naročito vitaminom B<sub>12</sub> koji predstavlja najveći i najkompleksniji vitamin, ali i vitamina D i A (Williamson i sar., 2005; Pereira i Vicente, 2013).

### **2.2.3. pH vrednost mesa**

Jedan od najznačajnijih parametara koji utiču na kvalitet mesa je pH vrednost. Promene pH vrednosti u prva 24 sata nakon klanja su ključne u određivanju kvaliteta mesa (Hau, 2008). Krajnja pH vrednost zavisi od tipa mišićnog vlakna koje je zastupljeno u mišićnom tkivu, vrste i fiziološkog stanja životinje (Toldrá, 2006). Pored pomenutog pH vrednost svinjskog mesa zavisi od rasa svinje, pola, fizičke aktivnosti i stresa koji utiče na post mortalni metabolizam u mišićima (Hau, 2008).

Po prestanku cirkulacije krvi nakon klanja koncentracija kiseonika u mišićnim ćelijama opada i nedostatak kiseonika zaustavlja aktivnost respiratornog lanca mitohondrija. U

anerobnim uslovima dolazi do glikolize u mišićima, pri čemu nastaje mlečna kiselina. Stvaranje mlečne kiseline utiče na pad pH vrednosti (Toldrá, 2006). Pad pH vrednosti ima više uloga. Stvaranje mlečne kiseline ima negativan uticaj na rast mikroorganizama i daje aromu mesu. Istovremeno ima uticaj na zrenje i mekoću mesa. U optimalnim uslovima pH vrednost svinjskog mesa pada do 5,5-5,8 i ove vrednosti dostiže već nakon 6-8h nakon klanja (Devine i Jensen, 2004). Pad pH vrednosti zavisi od metabličkog statusa u mišićima i količine glikogena. Temperatura ima uticaj na obim glikolize pa indirektno i na pH vrednost mesa. Minimalni pad pH vrednosti se javlja pri temperaturama između 10 i 12 °C, ali ukoliko se temperatura prerano snizi do 0 °C u miofibrilarnom prostoru se oslobođaju joni kalcijuma i aktivira se ATP-aza. Pod ovakvim okolnostima ako je ATP još uvek prisutan u mišićima nastaje kontrakcija koja se naziva i hladni rigor (skraćivanje). Ova pojava se javlja kod goveđeg, ovčijeg, čurećeg, a ređe kod svinjskog mesa, a može se prevenirati ukoliko se trupovi drže na temperaturama iznad 15 °C dok pH vrednost ne padne na 6. Kako se pH vrednost približava izoelektričnoj tački miofibrilarnih proteina, tako se njihovo nanelektrisanje menja ka neutralnom i opada sposobnost vezivanja vode (Toldrá, 2006). Niska pH vrednost ili relativno niska u vreme nakon klanja kada je temperatura trupa visoka može dovesti do denaturacije proteina. Ovakvo meso ima nizak kapacitet za vezivanje vode, a u nekim slučajevima može se javiti i bledo meko vodnjikavo meso (Pale,soft,exudative- PSE) (Hau, 2008). Meso se klasificuje na osnovu pH vrednosti, boje i sposobnosti vezivanja vode, pa se smatra da je meso svinja bledo, meko i vodenasto ukoliko je pH vrednost ispod 5,8 2h nakon klanja, boja mesa L\* vrednost veća od 50, a gubitak vode veći od 6%. Meso kod koga je boja nepromenjena, ali ima pH i sposobnost vezivanja vode karakteristično za PSE meso zove se crveno, meko i vodenasto meso (red, soft, exudative- RSE). Ako su rezerve glikogena male u vreme klanja životinje, neće doći do stvaranja velikih količina mlečne kiseline i krajnja pH vrednost ne pada ispod 6. Smatra se da pH vrednost od 5,9 nakon 24h predstavlja granicu pri kojoj se svinjsko meso označava kao tamno, čvrsto i suvo (dark, firm, dry -DFD) (Toldrá, 2006).

#### **2.2.4. Koncentracija ukupnog isparljivog azota kao indikator svežine mesa**

Termin svežina odnosi se na održivost nekog proizvoda i predstavlja jednu od najvažnijih karakteristika kvaliteta sa aspekta bezbednosti hrane (Cai i sar., 2011). Na svežinu svinjskog i drugih vrsta mesa, utiče razmnožavanje mikroorganizama kao i fizičko hemijske i biohemijske reakcije koje se dešavaju tokom skladištenja (Huang i sar., 2014; Huang i sar.,

2015). Pod dejstvom enzima i aktivnosti bakterija dolazi do razgradnje osnovnih sastojaka mesa, proteina, masti i ugljenih hidrata prilikom koga dolazi do formiranja isparljivih organskih jedinjenja. Kao posledica razgradnje ugljenih hidrata nastaju hidrokarboni, alkoholi, ketoni, aldehydi i karboksilne kiseline. Masti se razlažu na aldehyde i karbonske kiseline, dok kao posledica razlaganja proteina nastaju amonijak, vodonik sulfat i etilmerkaptan (Kong i Ma, 2003). Metaboliti kao što su trimetilamin, aldehydi, ketoni, estri i druga jedinjenja male molekulske mase koja utiču na senzorne osobine mesa, pre svega na stvaranje neprijatnih mirisa i ukusa (Gram i sar., 2002; Huang i sar., 2014). Ova jedinjenja zajedno sa drugim jedinjenjima koja sadrže azot čine ukupan isparljiv azot (total volatile basic nitrogen- TVB-N), koji pored broja bakterija i senzornih osobia predstavlja značajan parametar u proceni svežine mesa (Ozogul i Ozogul, 2000; Zhang i sar., 2008; Cai i sar., 2011; Huang i sar., 2014).

## 2.2.5. Kvar mesa

Nakon klanja, tokom obrade trupa, prerade, distribucije i skladištenja, kvar mesa može se javiti kao posledica razmnožavanja i aktivnosti bakterija kvara, oksidacije lipida i proteina ili usled autolitičkih procesa.

### 2.2.5.1. Mikrobiološki kvar mesa

Zbog svog nutritivnog sastava, pH vrednosti (5,5-6,5) i visoke  $a_w$  vrednosti, meso predstavlja pogodnu sredinu za rast i razmnožavanje mikroorganizama, od kojih neki mogu biti i patogeni (Jay i sar., 2005; Nychas i sar., 2008; Doulgeraki i sar., 2012).

Gastrointestinalni trakt i koža predstavljaju glavne izvore kontaminacije mesa ovim mikroorganizmima, ali do kontaminacije može doći i preko ubodnog noža za iskrvarenje, ruku radnika, opreme, a i limfni čvorovi mogu sadržati veliki broj mikroorganizama (Jay i sar., 2005; Dave i Ghaly, 2011). Mikrobiološki status mesa zavisi od načina držanja životinja, starosti i zdravstvenog stanja životinja za klanje, prakse tokom klanja, prerade i distribucije, temperature, načina konzervisanja, vrste pakovanja i načina skladištenja i postupanja sa hranom od strane potrošača (Nychas i sar., 2008; Cerveny i sar., 2009). Početni broj mikroorganizama na trupu varira od  $10^2$  do  $10^5$  CFU/cm<sup>2</sup>, ali samo oko 10% od inicijalnog broja može da raste prilikom skladištenja na temperaturi frižidera (Cerveny i sar., 2009).

Bakterije koje se najčešće mogu naći u mesu su *Pseudomonas* spp., *Micrococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Sarcina* spp., *Lactobacillus* spp., *Salmonella* spp., *Escherichia* spp., *Clostridium* spp. i *Bacillus* spp. (Lin i sar., 2004; Arnaut-Rollier i sar., 1999; Nychas and

Tassou, 1997). Rezultati istraživanja pokazuju da *Enterococcus* spp. predstavljaju dominantnu populaciju bakterija u mesu različitih vrsta životinja (goveđe, svinjsko, pileće i čureće meso) Hayes i sar. (2003). Koja populacija bakterija će činiti dominantnu floru mesa zavisi pre svega od uslova skladištenja. Nakon klanja mikroflora mesa se pre svega sastoji od mezofilnih bakterija, ali one se zbog izlaganja mesa niskom temperaturama zamenjuju populacijom psihrotrofa. Dominantnu mikrofloru mesa koje se skladišti na temperaturama frižidera čine *Pseudomonas* spp., *Moraxella* spp., *Psychrobacter* spp. i *Acinetobacter* spp.. Gram- negativne bakterije iz familije *Enterobacteriaceae* su često prisutne na crvenom mesu, naročito svinjskom i jagnjećem mesu koje se skladišti na temperaturama frižidera (Cerveny i sar., 2009). U aerobnim uslovima skladištenja do nastanka kvara obično dolazi usled razmnožavanja i aktivnosti *Pseudomonas* spp., dok bakterije mlečne kiseline, *Lactobacillus* spp., *Carnobacterium* spp. i *Leuconostoc* spp. učestvuju u nastanku kvara u mesu pakovanom u vakuum i modifikovanu atmosferu. *Brochothrix thermosphacta* takođe predstavlja često izolovanu bakteriju iz pokvarenog mesa skladištenog u aerobnim uslovima, vakuumu i modifikovanoj atmosferi (Casaburi i sar., 2015). Meso zdravih životinja u dubljim slojevima, po pravilu je sterilno (Petäjä-Kanninen i Puolanne, 2007; Talon i sar., 2004), zbog koje se kvar na mesu u komadima ili osnovnim delovima trupa javlja na površini i karakteriše se pojavom sluzi, neprijatnim mirisima, a mogu se javiti i gasovi (Cerveny i sar., 2009).

Pored bakterija u mesu se mogu naći i različite vrste plesni poput *Cladosporium* spp., *Sporotrichum* spp., *Geotrichum* spp., *Penicillium* spp., *Mucor* spp. i kvasaca (*Candida* spp., *Cryptococcus* spp., *Rhodotorula* spp.) koji u određenim uslovima mogu da dovedu do pojave kvara (Garcia-Lopez i sar., 1998).

Obim i vrsta kvara zavise od koncentracije glukoze, mlečne kiseline, azotnih jedinjenja i slobodnih aminokiselina prisutnih u mesu, koje bakterije koriste kao supstrate u svom metabolizmu, a kao prizvodi njihove aktivnosti formiraju se metaboliti koji daju karakteristike kvara, pre svega neprijatnih mirisa (Skandamis and Nychas, 2002; Nychas i sar., 2008; Casaburi i sar., 2015). Proizvodi metabolizama mikroorganizama glukoze, masne kiseline, ketoni i alkoholi dovode do pojave slatkastog ili mirisa sa voćnom notom, dok kao posledica razgradnje aminokiselina u kasnijoj fazi kvara nastaju vodonik sulfid, metilsulfid i dimetilsulfid koji uzrokuju pojavu truležnog mirisa Dainty (1996; Jay i sar., 2005; Hui, 2006).

### **2.2.5.2. Kvar kao posledica oksidacionih procesa**

Oksidativne promene (oksidacija lipida i proteina) predstavljaju jedan od najvećih problema u industriji mesa s ekonomskog aspekta, jer pored toga što za posledicu imaju stvaranje neprijatnih mirisa i ukusa, diskoloracije, eksudaciju, smanjenje nutritivne vrednosti, a samim tim i kvaliteta, ograničavaju održivost i dovode do akumulacije toksičnih jedinjenja, utičući na taj način na smanjenje cena mesa i proizvoda od mesa (Richards i sar., 2002.; Chaijan, 2008; Mapiye i sar., 2012; Sample, 2013).

Oksidacija lipida u mesu zavisi od količine i sastava masnih kiselina, prisutnih antioksidanata ( $\alpha$  tokoferol), prooksidativnih jedinjenja kao što je slobodno gvožđe u mišićima i pH vrednosti mesa. Na oksidativne promene u mesu utiče ishrana životinja kao i postupak sa životinjama pre klanja, (stres) (Linares i sar., 2007). Podložnost mesa oksidativnim procesima zavisi izmeđuostalog i od vrste i rase životinje, tipa mišića i anatomske lokacije (Min i sar., 2008).

Nakon klanja životinje, kada dođe do prestanka cirkulacije krvi i zaustavljanja metaboličkih procesa masne kiseline podležu oksidacionim promenama (Gray and Pearson, 1994; Linares i sar., 2007). Lipidna oksidacija je reakcija koja se odvija između kiseonika i dvostrukih veza nezasićenih masnih kiselina, a polinezasičene kiseline su podložnije oksidaciji zbog većeg broja dvostrukih veza (Hultin, 1994). Sastoji se iz tri stadijuma, inicijacije, propagacije i terminacije (Frankel, 1985; Khayat and Schwall, 1983; Fernindez i sar., 1997). Tokom inicijacije toplota, metalni joni ili zračenje se ponašaju kao katalizatori i dovode do formiranja slobodnih radikala koji u reakciji sa kiseonikom formiraju peroksil radikale. U fazi propagacije peroksil radikali reaguju sa drugim lipidnim molekulima i formiraju hidroperokside i nove slobodne radikale. U poslednjoj fazi slobodni radikali reaguju međusobno i dolazi do stvaranja sekundarnih produkata u koje spadaju pentanal, heksanal, 4- hidroksinonenal, malondialdehid (MDA), aldehidi, ketoni i kiseline (Raharjo i Sofos, 1993; Hultin, 1994; Shahidi, 1994; Fernindez i sar., 1997; Fraser i Sumar, 1998). Ovi sekundarni proizvodi utiču na promenu boje, smanjuju nutritivnu vrednost i imaju ulogu u nastanku kancerogenih i mutagenih procesa (Liu i sar., 1995; Simitzis i Deligeorgis, 2010).

Hidroliza lipida u mesu može nastati kao posledica dejstva enzima ili neenzimskim putem. Za enzimsku hidrolizu masti koristi se termin lipoliza i nastaje delovanjem lipaza, esteraza i fosfolipaza. Enzimi koji učestvuju u lipolizi mogu biti endogenog ili egzogenog porekla od psihotrofnih mikroorganizama. Lipaze su prisutne na koži, u krvi ili tkivima životinja, a tokom lipolize odvajaju gliceride i utiču na formiranja slobodnih masnih kiselina, koje su

odgovorne za pojavu neprijatnih mirisa i ukusa, odnosno užeglosti (Ghaly i sar., 2010). Fosfolipaza A<sub>1</sub> i fosfolipaza A<sub>2</sub> su enzimi koji imaju glavnu ulogu u hidrolizi lipida (Toldra, 2006).

Neenzimska hidroliza uzrokovana je oksidacijom proteina koji sadrže hem, hemoglobinom, mioglobinom i citohromom (Love i Pearson, 1971; Kanner, 1994). U ovom procesu mioglobin oksidiše i gvožđe iz Fe<sup>2+</sup> prelazi u Fe<sup>3+</sup> oblik. Superoksid anjon reaguje sa jonom vodonika i dolazi do stvaranja vodonik-peroksida koji dalje oksidiše Fe<sup>3+</sup> do slobodnih kiseonikovih radikala. Slobodno gvožđe u mišićnom tkivu, podstaknuto askorbinskom kiselinom, predstavlja glavnog pokretača peroksidacije masti u svežem mesu i značajno doprinosi oksidaciji oksimoglobina (Cascone, 2005).

#### **2.2.5.3. Kvar kao posledica autolitičkih procesa**

Enzimska aktivnost, koja se normalno odvija u mišićnim ćelijama nakon klanja i ima ulogu u zrenju mesa, može biti jedan od uzroka kvara mesa. U procesu autolize dolazi do razlaganja ugljenih hidrata, masti i proteina, a proizvodi degradacije ovih strukturalnih komponenti dovode do razmekšavanja mesta i zelenkastog prebojavanja. Ove autolitičke promene obuhvataju proteolizu i hidrolizu masti koje predstavljaju preduslov za razlaganje strukturalnih komponenti mesa od strane mikroorganizama. U anglosaksonskoj literaturi za prekomerne autolitičke procese se koristi termin „kišeljenje“ (souring) (Tauro i sar., 1986). Postmortalno razlaganje polipeptida utiče na stvaranje neprijatnih mirisa i promene strukture mesa (Toldra and Flores, 2000). Autolitički procesi se odvijaju u svim tkivima, međutim, u nekim organizma se odvijaju brže, kao što je slučaj sa jetrom, dok se u poprečno prugastim mišićima odvijaju sporije (Fearon and Foster, 1922). Smatra se da katepsini, kalpaini i aminopeptidaze imaju glavnu ulogu u autolitičkim procesima u mesu. Ovi enzimi dovode do degradacije proteina koji učestvuju u izgradnji Z linije miofibrila (O'Halloran i sar., 1997; Huss, 1995).

#### **2.2.6. Svinjsko meso kao izvor bioloških opasnosti**

Bolesti prenosive hranom čiji su uzročnici *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Yersinia enterocolitica*, enterohemoragična *Escherichia coli* (EHEC), *Campylobacter spp.*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* i druge *Bacillus spp.*, hepatitis E virus (HEV) vezane su za konzumiranje svinjskog mesa, koje se ovim patogenim mikroorganizmima može kontaminirati od žive životinje, opreme, osoba koje su u kontaktu sa mesom ili iz okoline (Mataragas i sar., 2008).

Osim što predstavlja potencijalni izvor patogena koji izazivaju alimentarne infekcije i intoksikacije, svinjsko i crveno meso uopšte, kao i svinjska mast, se sve češće povezuju sa metaboličkim poremećajima i patološkim stanjima kao što su kardiovaskularne bolesti, razne vrste kancera, gojaznost i *diabetes mellitus* tip 2 (Buttriss, 2005; Williamson i sar., 2005; Larsson i Wolk, 2006; Ferguson, 2010; McAfee i sar., 2010; Baena Ruiz i Salinas Hernández, 2014; Berjia i sar., 2014).

### **2.3. Pakovanje mesa i proizvoda od mesa**

Paralelno sa povećanim zahtevima s aspekta higijene proizvodnje i bezbednosti mesa i proizvoda od mesa, vodeći računa o potrebama potrošača, ali i ekonomičnosti, industrija pakovanja hrane se brzo razvija trudeći se da zadovolji ova očekivanja (Kerry i sar., 2006). Pakovanje svake vrste hrane predstavlja svojevrstan izazov, pa ni sa mesom nije drugačiji slučaj (O' Sullivan i Kerry, 2010). Meso i proizvodi od mesa se pakuju da bi se sprečila njihova kontaminacija iz spoljašnje sredine, sprečio rast potencijalno prisutnih patogenih mikroorganizama, kao i mikroorganizama koji izazivaju kvar i prevenirale fizičke i hemijske promene koje mogu uticati na smanjenje nutritivne vrednosti (Graham, 2001; Chen i sar., 2012). Pakovanje svežeg mesa pored pomenutog treba da omogući odvijanje enzimskih aktivnosti koje utiču na mekoću mesa, spreči dehidrataciju i smanji kalo (Brody, 1997; Kerry i sar., 2006). Pakovanje mesa treba da zadovolji i rastuće potrebe potrošača u pogledu praktičnosti, bezbednosti, kvaliteta i naročito senzornih osobina na osnovu kojih se odlučuju za kupovinu nekog proizvoda, pre svega izgleda, tekture i ukusa (Chambers i Bowers 1993; Liu i sar. 1995; O' Sullivan i Kerry, 2010). Kao metode pakovanja mesa i proizvoda od mesa najčešće se koriste pakovanje u vakuum i pakovanje u modifikovanu atmosferu (Adams i Moss, 2000).

#### **2.3.1. Pakovanje mesa u vakuum**

I pored napredka i novih tehnologija koje se primenjuju u sistemima za pakovanje, primena vakuum pakovanja i dalje je najekonomičniji i jedan od najviše korišćenih načina pakovanja mesa i proizvoda od mesa (Toldrá, 2010; Chen i sar., 2012).

Vakuum pakovanja se koriste za pakovanje osnovnih delova trupa, većih komada mesa, termički obrađenog mesa, salamurenog mesa, kao i mesa ribe (Adams i Moss 2000; Graham 2001; Chen i sar., 2012). Vakuum pakovanja produžavaju održivost mesa i proizvoda od mesa tako što uklanjaju kiseonik iz okruženja, stvaraju anaerobnu sredinu i na taj način

sprečavaju oksidaciju lipida. Kiseonik koji je ostao u vakuum pakovanju apsorbuje se u meso i uklanja enzimskim ili drugim hemijskim reakcijama u mišićnom tkivu (Gill i Gill, 2005). Višak kiseonika se pomenutim tzv. respiracionim procesima u mesu zamenjuje ugljen-dioksidom, čija koncentracija u vakuum pakovanju može dostići i 10-20% tokom skladištenja (Taylor 1985; Parry 1993; Gill 1996). Ipak određena koncentracija kiseonika u pakovanju uvek ostaje prisutna jer je kapacitet mišićnog tkiva za uklanjanje kiseonika ograničen (Gill i Gill 2005). Kada je meso pravilno upakovano količina kiseonika u vakuumu je ispod 1%, a filmovi sa malom propustljivošću za gasove ograničavaju ulazak kiseonika iz spoljašnje sredine (Parry 1993; Robertson, 2006). Efektivnost pakovanja u vakuumu zavisi i od bliskog kontakta folije i površine proizvoda (Gill, 1992). Danas se sve više koriste vakuum pakovanja sa „kožom“ (skin vacuum packaging) gde filmovi koji imaju nisku propustljivost za gasove blisko naležu na površinu proizvoda (Toldrá, 2010). Potreba za bliskim naleganjem filma na površinu proizvoda može dovesti do prekida njegovog kontinuiteta ukoliko se meso u komadima pakuje sa kostima, zbog čega je preporučljivo da se vakuum koristi za pakovanje mesa bez kostiju. Takođe vakuum pakovanja se ne koriste za pakovanje komada mesa nepravilnog oblika da bi se izbeglo stvaranje prostora između filma i površine proizvoda u kojima posledično dolazi do povećanja koncentracije kiseonika i nakupljanja tečnosti (Jeremiah, 2001). U vakuum pakovanju oksimioglobin prelazi u dezoksimioglobin zbog male koncentracije prisutnog kiseonika i menja boju svežeg mesa iz svetlo crvene u purpurnu boju, koja je manje prihvatljiva potrošačima (Toldrá, 2010). Ipak salamurenii proizvodi od mesa se pakuju u vakuum u cilju zadržavanja ružičaste boje i sprečavanja oksidacije nitrozomioglobina (Adams i Moss 2000). Uklanjanje kiseonika iz pakovnja inhibira i rast aerobnih, kako Gram- negativnih tako i Gram- pozitivnih bakterija koje izazivaju kvar mesa, kao što su *Pseudomonas* spp. i *Brochothrix thermosphacta* (Clarks i Lentz 1969; Holley i McKellar 1996; Zhou i sar., 2010).

### **2.3.2. Pakovanje mesa u modifikovanu atmosferu**

Pakovanje u modifikovanoj atmosferi (Modified atmosphere packaging-MAP) je efektivan način konzervisanja namirnica uključujući i meso i proizvode od mesa (Chouliara i sar., 2007; McMillin, 2008; Narasimha i Sachindra, 2002; Skandamis i Nychas, 2002; Zhou i sar., 2010). Ova tehnika se zasniva na uklanjanju atmosferskog vazduha i njegove zamene gasom ili smešom odabralih gasova u pakovanju proizvedenom od specijalnih materijala koja će omogućiti održavanje željene atmosfere (Chouliara i sar., 2007; McMillin, 2008; Skandamis i

Nychas, 2002; Zhou and Liu, 2010; Cooksey, 2014). Pakovanje mesa u modifikovanu atmosferu može da produži period održivosti za 50- 400% (Rao i Sachindra, 2002).

### **2.3.2.1. Gasovi koji se koriste u modifikovanoj atmosferi i njihova uloga**

Gasovi koji se najčešće koriste su ugljen-dioksid, kiseonik i azot, koji se u zavisnosti od vrste namirnice koriste u različitim kombinacijama i koncentracijama (Chouliara i sar., 2007; Narasimha i Sachindra, 2002).

Osnovna uloga kiseonika u pakovanju je u održavanju svetlo crvene boje, koja služi kao indikator svežine sirovog mesa. U zavisnosti od koncentracije ovog gasa upotrebljenog u pakovanju, pakovanja u modifikovanoj atmosferi se dele na one sa niskom, u kojoj kiseonik ne mora biti prisutan sem kao rezidualni i one sa visokom koncentracijom kiseonika, u kojima je njegova koncentracija oko 80% (Toldrá, 2010; Cooksey, 2014). Kvar mesa je izazvan uglavnom ili oksidacijom komponenata mesa, naročito lipida, ili aktivnošću bakterija kvara, pre svega aerobnim mikroorganizmima, a ovi procesi se ubrzavaju u prisustvu kiseonika, što ukazuje na značaj njegove redukcije u modifikovanoj atmosferi, ali do te mere pri kojoj ne dolazi do promene boje, jer je boja osnovni parametar koji potrošači koriste prilikom ocene svežine i prihvatljivosti mesa (Kerry i sar., 2002; Toldrá, 2010; Cooksey, 2014).

Ugljen-dioksid se dodaje u modifikovanu atmosferu zbog svog antimikrobnog dejstva. S obzirom da se ovaj gas apsorbuje u cilju postizanja konkaviteta pakovanja nekad se dodaje veća koncentracija ugljen-dioksida. Međutim,, višak ovog gasa rezultira stvaranjem veće količine mlečne kiseline i sniženjem pH vrednosti mesa koje dovodi do precipitacije sarkoplazminih proteina, povećane eksudacije, što kao posledicu ima promenu u teksturi i ukusu mesa nakon kuvanja (Cooksey, 2014).

Zbog ovih negativnih efekata u cilju sprečavanja kolapsa pakovanja koji nastaje kao posledica rastvaranja ugljen- dioksida u mesu, u pakovanja sa modifikovanom atmosferom se dodaje azot, inertan gas, slabo rastvorljiv u vodi i mastima, koji ne reaguje sa pigmentima niti se apsorbuje u mesu (Zhou i sar., 2010; Ospina Meneses i Cartagena Valenzuela, 2012; Cooksey, 2014). Zbog svojih fizičkohemijskih karakteristika ovaj gas se koristi da zameni kiseonik u pakovanjima sa modifikovanom atmosferom (Ospina Meneses i Cartagena Valenzuela; 2012).

Ugljen-monoksid (CO) kao gas u modifikovanoj atmosferi za pakovanje svežeg mesa počeo je da se koristi 1985. godine u Norveškoj. Ovaj gas korišćen u niskim koncentracijama od

0,3% do 0,5% ima izuzetno povoljan efekat na boju svežeg mesa i omogućava održavanje trešnja crvene boje, bez upotrebe visokih koncentracija kiseonika u pakovanju (Cornforth i Hunt, 2008; Cooksey, 2014). Ugljen-monoksid može maskirati kvar proizvoda do koga dolazi usled prekida hladnog lanca, jer održava stabilnu boju (Wilkinson i sar, 2006 ). Potencijalna opasnost koja nastaje zbog prekida hladnog lanca se može kontrolisati praćenjem temperature u pakovanju novim inteligentnim tehnologijama koje reaguju na rast temperature na taj način što oslobačaju mastilo ili preko enzimskih vremensko temperaturnih indikatora (Cooksey, 2014). Upotreba ugljen monoksida u ove svrhe zabranjena je zakonskim regulativama sem u Norveškoj, Sjedinjenim Američkim Državama i Kanadi gde se ovaj gas koristi u niskim koncentracijama (Cooksey, 2014).

Kada je u Evropi ugljen monoksid prestao da se koristi u smeši gasova za modifikovanu atmosferu, pažnja se preusmerila na argon (Ar), gas bez ukusa i mirisa koji je u vodi i mastima rasvorljiviji od azota (Morgan, 2007; Cooksey, 2014). Argon takođe reaguje sa oksidazama i može odložiti kvar, a s obzirom na to da ima veću gustinu od azota, efikasniji je za korišćenje kao zamena za kiseonik u pakovanju (Cooksey, 2014). Rezultati ispitivanja sproveđenih na šunci, mesu grudi čuraka, sirovih svinjskih kobasicama, pilećeg mesa i ribljih fileta, prilikom kojih je argon korišćen u kombinaciji sa ugljen- dioksidom ili azotom u cilju ispitivanja oksidativne stabilnosti i mikrobioloških karakteristika su kontradiktorni (Fachon, 2002; Choubert i sar., 2008; Fraqueza i Barreto, 2009; Ruiz-Capillas i Jimenez-Colmenero, 2010; Tomankova i sar., 2012; Herbert i sar., 2013). Sumiranjem rezultata ovih istraživanja dolazi se do podataka da argon ne utiče značajno na redukciju broja bakterija, sem na *Brochothrix thermosphacta*, ali da ima povoljni efekat na neke senzorne karakteristike mesa i proizvoda od mesa. Zbog ovakvih rezultata teško je zaključiti koliki je značaj upotrebe argona u modifikovanoj atmosferi, pa su dalja ispitivanja neophodna (Cooksey, 2014).

### **2.3.2.2. Odnos zapreme gasova i proizvoda i materijali za pakovanje**

Koncentracija gasova u pakovanju sa modifikovanom atmosferom nije statična i menja se tokom perioda skladištenja. Promena koncentracije gasova nastaje kao posledica propustljivosti za gasove materijala koji se koriste za pakovanje, rasta i aktivnosti mikroorganizama, apsorpcije gasova u proizvod i respiracionih procesa koji se dešavaju u samom proizvodu (Esmer i sar., 2011). Učestalost ovih promena raste sa smanjenjem odnosa zapreme gasova i mase proizvoda (Gill i Molin, 1991; Jeremiah, 2001). Odnos zapreme gasova i mase mesa treba da bude 1,5-2:1, a da bi se sprečio kolaps pakovanja i održala

stabilnost smeše gasova preporučuje se da odnos bude 3:1 (Gill i Molin, 1991; Blakistone, 1999b; Gill i Gill, 2005; McMillin, 2008). Ipak ovaj odnos zapremine gasova i mase proizvoda nije pogodan sa ekonomskog i aspekta zaštite životne sredine (Gill, 1991; Jeremiah, 2001). Kontrolisano pakovanje u modifikovanoj atmosferi omogućava održavanje nepromenjene koncentracije gasova u smeši tokom perioda skladištenja. To se postiže na taj način što se za pakovanje koristi film koji nije permeabilan za gasove. Da bi materijal bio nepropustljiv za gasove neophodno je da sadrži sloj nekog neplastičnog materijala, kao što je na primer aluminijum, kao i da se zatvaranje pakovanja obavlja primenom toplove. Ovaj način pakovanja u modifikovanoj atmosferi produžava održivost proizvoda i čini ga pogodnijim za distribuciju (Jeremiah, 2001).

Plastični materijali za pakovanje mogu se naći u formi fleksibilnih folija za kese ili rigidnih i polurigidnih materijala koje služe za proizvodnju baza za pakovanje u oliku tacna, kadica i čaša. Plastične mase koje se najčešće koriste za proizvodnju pakovanja za modifikovanu atmosferu su polietilen (PE), polipropilen (PP), poliamid, polietilen tereftalat (PET), polivinil hlorid (PVC), poliviniliden hlorid (PVdC) i etilen vinil alkohol (EVOH) (Mullan i McDowell, 2003).

### **2.3.3. Uticaj načina pakovanja na kvalitet i bezbednost mesa i proizvoda od mesa**

Način pakovanja utiče na održivost mesa, odnosno parametre održivosti u koje spadaju sposobnost vezivanja vode, boja, lipidna stabilnost, mikrobiološki kvalitet i palatibilnost. Način na koji će odgovarajući način pakovanja uticati na održivost svežeg mesa zavisi od kombinacije upotrebljenih gasova i njihovih koncentracija u smeši, odnosa pakovanja i količine mesa, načina i materijala za pakovanje, temperature skladištenja i dodatih aditiva. Kao posledica kvara mesa javlja se diskoloracija, stvaraju se metaboliti koji prouzrokuju pojavu neprijatnog mirisa i ukusa, menja se tekstura, smanjuje količina nutritijenata i dolazi do razvoja patogenih ili bakterija kvara koje mogu ugroziti zdravlje potrošača (McMillin, 2008; Zhou i sar., 2010). Svrha pakovanja mesa i proizvoda od mesa u modifikovanu atmosferu ogleda se u mogućnosti održavanja željenih osobina proizvoda tokom određenog vremenskog intervala (McMillin, 2008).

#### **2.3.4. Uticaj načina pakovanja na boju mesa i proizvoda od mesa**

Boja pakovanog mesa i njena stabilnost je jedan od najznačajnijih parametara kvaliteta mesa i indikator njegove svežine i održivosti (McMillin, 2008). Takođe potrošači se najčešće opredeljuju za kupovinu svežeg mesa ili nekog proizvoda od mesa na osnovu njegove boje (Mancini i Hunt, 2005). Najzastupljeniji pigmenti u mesu su mioglobin, oksimioglobin i metmioglobin. Mioglobin u zavisnosti od koncentracije prisutnog kiseonika može biti u oksidovanoj ili redukovanoj formi (Coles i sar., 2003).

U prisustvu visokih koncentracija kiseonika mioglobin se nalazi u redukovanoj formi ( $\text{Fe}^{2+}$ ) oksimioglobina koji daje poželjnu svetlo crvenu boju mesa (Coles i sar., 2003; Mancini i Hunt, 2005). Dubina prodiranja kiseonika i formiranje oksimioglobina zavisi od temperature mesa, koncentracije i parcijalnog pritiska kiseonika, pH vrednosti i respiratornih procesa koji se odigravaju u mesu (Mancini i Hunt, 2005). Visoka koncentracija kiseonika koriste se pre svega za pakovanje goveđeg i ovčijeg mesa (Toldrá, 2010). Meso živine i ribe sadrži niže koncentracije mioglobina u mišićnim ćelijama, i za razliku od crvenog mesa potrošačima boja ne predstavlja osnovni kriterijum za ocenu svežine zbog čega ove vrste mesa nije neophodno pakovati u atmosferu sa visokim sadržajem kiseonika (Cooksey, 2014).

Metmioglobin je oksidovano stanje mioglobina ( $\text{Fe}^{3+}$ ) i ovaj pigment daje braon nijansu mesu. Metmioglobin nastaje kada je mioglobin duži vremenski period izložen svetlu, topotu, niskoj koncentraciji kiseonika, prilikom zamrzavanja mesa ili kao posledica rasta mikroorganizama i njihovog metabolizma (Coles i sar., 2003; Mancini i Hunt, 2005). Rezultati istraživanja su pokazali da potrošači izbegavaju da kupuju meso gde je količina metmioglobina 20%, dok su meso gde je njegova količina 40% u potpunosti odbijali (McMillin, 2008).

Dezoksimioglobin je redukovani oblik mioglobina ( $\text{Fe}^{2+}$ ) koji daje purpurnu boju mesu u odsustvu kiseonika (Mancini i Hunt, 2005). Mioglobin se nalazi u neoksidovanom obliku u mesu pakovanom u vakuum i boja ovog mesa je purpurna i za potrošače nepoželjna, ali meso može povratiti svetlo crvenu boju nakon otvaranja pakovanja (Chen i sar., 2012).

Karboksimioglobin nastaje u prisustvu ugljen monoksida i mesu daje crvenu boju sličnu onoj koja nastaje kada je dominantna forma oksimioglobin. Ova forma mioglobina je mnogo stabilnija od oksimioglobina i u njenom prisustvu se odlaže lipidna oksidacija i stvaranje metmioglobina (Coles i sar., 2003).

Na boju proizvoda od mesa utiče nitrozilmioglobin koji se formira u reakciji između mioglobina i azot monoksida, a posledica je dodavanja nitrita i nitrata, koji se pod dejstvom

bakterija redukuju do nitrita. Tokom topotne obrade nitrozilmioglobin se denaturiše do nitrozohemohroma i dobija se ružičasto crvena boja. Ipak ova boja je nestabilna i gubi se u prisustvu svetla i kiseonika koji uzrokuju disocijaciju azotmonoksida što rezultira pojmom braon sivih diskoloracija. Pakovanje proizvoda od mesa u modifikovanu atmosferu sa niskom koncentracijom kiseonika utiče na stabilizaciju poželjne ružičasto crvene boje (Coles i sar., 2003).

Oksimoglobin	Mioglobin	Metmioglobin
(svetlo crvena, $\text{Fe}^{2+}$ )	(purplurno plavičasta, $\text{Fe}^{2+}$ )	(braonkasto crvena, $\text{Fe}^{3+}$ )
Karboksimioglobin		
(jarko trešnja crvena)		

### 2.3.5. Uticaj načina pakovanja na oksidativne promene u mesu i proizvodima od mesa

Oksidacija lipida ili užeglost je osnovni uzrok kvara mesa koji dovodi do pojave diskoloracije i neprijatnih mirisa u mesu (Coles i sar., 2003). U prisustvu kiseonika dolazi do oksidacije polinezasićenih masnih kiselina u mesu, i formiraju se peroksil radikali ili hidroperoksiđi. Nestabilni hidroperoksiđi pretvaraju se u slobodne radikale koji ubrzavaju stepen autooksidacije. Aldehidi, ketoni, hidrokarboni, laktoni, estri i alkoholi koji nastaju kao posledica oksidacije masti dovode do stvaranja neprijatnog mirisa i ukusa karakterističnog za užeglu hranu, kao i diskoloracije i gubitka nutritivnih karakteristika (Coles i sar., 2003; Du i McCormick, 2009; Toldrá, 2010). Neprijatni miris i ukus se razvijaju brže u mesu koje je skladišteno u zamrznutom stanju ili podgrejano (Toldrá, 2010). Takode i oblik u kome se meso pakuje ima uticaj na oksidativnu stabilnost. Rezultati istraživanja su pokazali da su oksidativne promene u većem stepenu izražene u mlevenom mesu gde je struktura mišićne ćelije prekinuta i lipidi izloženi delovanju kiseonika u većoj meri nego što je to slučaj kod mesa u komadima (Sato i Hegarty, 1971). Pakovanje mesa u atmosferu sa visokom koncentracijom kiseonika dovodi do oksidacije masti u goveđem, svinjskom i jagnjećem mesu (Kerry i sar., 2000; Lund i sar., 2007; Zakrys i sar., 2008 ; Zakrys i sar., 2009). Atmosfera sa visokom koncentracijom kiseonika utiče na formiranje oksimioglobina, odlaže

vremenski period kada metmioglobin postaje vidljiv na površini mesa i na taj način maskira užeglost jer zadržava svetlo crvenu boju čak i kada je već došlo do oksidativnih promena (Jayasingh i sar., 2002; Toldrá, 2010). U prisustvu visokih koncentracije kiseonika dolazi i do oksidacije proteina što za posledicu može imati povećanu žilavost i smanjenu sočnost mesa i na taj način utiče na smanjenje ukupnog kvaliteta (Xiong, 2000). Pakovanje mesa u modifikovanoj atmosferi sa niskim koncentracijama kiseonika i njegove zamene azotom ili ugljen-dioksidom ili njihovom kombinacijom može se sprečiti nastajanje užeglosti i odložiti formiranje ukusa i mirisa koji je posledica oksidativnih promena (Coles i sar., 2003). Karboksimioglobin (COMb) koji nastaje u prisustvu ugljen monoksida je otporniji na oksidaciju nego oksimioglobin, zato sto se ugljen monoksid jače vezuje za gvožđe u porfirinskom prstenu mioglobina (Toldrá, 2010).

### **2.3.6. Uticaj načina pakovanja na količinu i sposobnost vezivanja vode u mesu i proizvodima od mesa**

Sposobnost vezivanja vode predstavlja sposobnost mesa da vezuje sopstvenu ili dodatu vodu, a količina vezane vode utiče na izgled proizvoda kao i njegovu ekonomsku vrednost. Pakovanja mesa koja izvlače tečnost, i ona kod kojih je prisutan višak tečnosti su nepoželjna potrošačima. Eksudat, odnosno mesni sok je uglavnom sastavljen iz proteina sarkoplazme i može činiti 2-10% mase krtača mesa. Količina eksudata zavisi od građe i sastava mišića, uslova proizvodnje trupa, veličine komada mesa, mehaničkog pritiska i temeprature skladištenja, a prilikom pakovanja pre svega od odnosa površine proizvoda i zapremine pakovanja i može se smanjiti logintudinalnim umesto transferzalnim sečenjem mišićnih vlakana (Gill i Molin, 1991; McMillin, 2008). Rezultati istraživanja pokazuju da je gubitak mase usled eksudacije veći kod mesa pakovanog u vakuum nego onog pakovanog u modifikovanu atmosferu, kao i da termosakupljuća folija smanjuje eksudaciju za 51-68% (Zarate i Zaritzky, 1985; Cayuela i sar., 2004; McMillin, 2008). Poseban problem predstavlja dehidratacija koja se može javiti kod zamrznutog mesa. Pakovanja koja imaju malu propustljivost za vodenu paru štite proizvod od isušivanja, međutim, ukoliko dođe do temperaturnih promena tokom perioda skladištenja, a materijal za pakovanje ne naleže dobro na površinu proizvoda doći će do izlaska tečnosti iz mesa u prostor pakovanja. S druge strane veća površina mesa ostaje isušena, izložena je kiseoniku i podložna je procesima oksidacije, što utiče na kvalitet samog proizvoda (Brown i Williams, 2003).

### **2.3.7. Uticaj načina pakovanja na bakterije kvara i patogene bakterije u mesu i proizvodima od mesa**

Meso je izvor visoko vrednih nutritijenata i ima visoku  $a_w$  vrednost što ga čini pogodnom sredinom za rast i razmnožavanje bakterija (Sun i Holley, 2012). Koja će i u kojoj količini mikroflora kvara biti prisutna u upakovanim mesima zavisi od zdravstvenog stanja jedinke za klanje, postupanja sa živim životinjama, higijene klanja, sanitacije opreme, načina hlađenja, vrste i karakteristika mesa (koncentracije glukoze, pH vrednosti), uslova sredine i skladištenja, kao što su temperatura i atmosfera, propustljivosti materijala za pakovanje za kiseonik i inicijalnog broja bakterija i njihove sposobnosti za rast (Garcia-Lopez i sar., 1998; McMillin, 2008). Mikroorganizmi kvara se inicijalno nalaze u malom broju i čine mali deo mikroflore svežeg mesa, međutim, tokom perioda skladištenja njihov broj raste brže nego broj dugih mikroorganizama. Porastom broja bakterija kvara i njihovom aktivnošću nastaju produkti metabolizma koji izazivaju pojavu neprijatnih mirisa i ukusa, dolazi do formiranja sluzi i strukturnih promenama u mesu (Sun i Holley, 2012). U zavisnosti od toga koja je vrsta mikroorganizama čini dominantnu mikrofloru broj bakterija kvara koji je neophodan da dođe do senzornih promena u mesu varira od  $10^6$  do  $10^9$  CFU/g (Gill i Gill, 2005; Sun i Holley, 2012).

Promena atmosfere u kojoj se bakterije nalaze, smanjenje koncentracije kiseonika i povećanje koncentracije ugljen-dioksida može redukovati njihov broj i usporiti njihov rast i na taj način produžiti održivost mesa (Sun i Holley, 2012). Pakovanje mesa u vakuum i modifikovanu atmosferu utiče na promenu u sastavu i broju mikroflore mesa i posledično na vreme kada će doći do kvara i njegove karakteristike. U vakuum pakovanju nedostatak kiseonika i posledična akumulacija ugljen-dioksida ograničava rast aerobnih bakterija poput Gram-negativnih *Pseudomonas* spp., dok dominantnu mikrofloru čine Gram- pozitivne bakterije, pre svega bakterije mlečne kiseline kao što su *Lactobacillus* spp., *Carnobacterium* spp. i *Leuconostoc* spp. (Adams i Moss, 2008; Chen i sar., 2012). Pakovanje mesa u vakuum i njegovo skladištenje na niskim temperaturama u značajnoj meri redukuje broj *Brochothrix thermosphacta*, Gram-pozitivne, fakultativno anaerobne bakterije, kao i bakterije iz familije *Enterobacteriaceae*. pH vrednost mesa je takođe značajan parametar tokom skladištenja proizvoda, pa tako rezultati istraživanja pokazuju da psihrotrofne bakterije iz familije *Enterobacteriaceae* i *Shewanella putrefaciens* ne rastu u vakuum pakovanjima sa normalnom pH vrednosti, dok je njihov rast omogućen ukoliko je pH vrednost iznad 6 (Adams i Moss, 2000; Chen i sar., 2012). Kvar mesa pakovanog u vakuum se karakteriše pojmom

kiselkastog, neprijatnog mirisa. Mikroorganizmi dostižu svoj maksimalni broj od oko  $10^7$  CFU/cm<sup>2</sup> nakon otprilike nedelju dana skladištenja, a neprijatni miris postepeno nastaje nakon tog perioda. Smatra se da je ovaj kiselkast miris posledica nakupljanja organskih kiselina, mada neki autori smatraju da na formiranje karakterističnog mirisa utiču i metan tiol i dimetil sulfid (Adams i Moss, 2008). U odsustvu kiseonika u vakuum pakovanju skladištenim na temperaturama frižidera može doći do klijanja spora i rasta anaerbnih bakterija *Clostridium* spp.: *Cl. algidicarnis*, *Cl. algidixylanolyticum*, *Cl. estertheticum*, *Cl. frigidicarnis*, *Cl. gasigenes* i *Cl. putrefaciens* koje izazivaju skupljanje gasova u pakovanju (“blown pack”) (Doulgeraki i sar., 2012). I neke patogene bakterije, koje su fakultativni anaerobi poput *E. coli* i *Aeromonas hydrophilia*, mogu rasti u ovim uslovima (Mullan i McDowell, 2003).

Za razliku do vakuum pakovanja, način na koji pakovanje u modifikovanoj atmosferi utiče na bakterije kvara zavisi od gasova koji se koriste i njihovih koncentracija. Gram-negativne bakterije su osjetljivije na dejstvo ugljen-dioksida od Gram-pozitivnih bakterija, zato što su Gram-pozitivne bakterije uglavnom fakultativni ili striktni anaerobi (McMillin, 2008). Ovaj gas inhibira rast bakterija koje uzrokuju kvar mesa npr. *Aeromonas* spp., *Enterobacteriaceae* spp.. ali i patogenih bakterija, uzročnika bolesti prenosivih hranom kao što su *Campylobacter* spp.. i *Salmonella* spp. Bakterije mlečne kiseline poput *Lactobacillus* spp.. mogu da rastu u uslovima modifikovane atmosfere i takmiče se sa štetnim bakterijama, dok one same mogu izazvati kvar tek nakon dugog perioda skladištenja (Cooksey, 2014). Visoke koncentracije ugljen-dioksida inhibiraju rast *Pseudomonas* spp., a prema nekim istraživanjima inhibicija *Pseudomonas fragi* je veća nego *Pseudomonas fluorescens* i *Pseudomonas lundensis* (Adams i Moss, 2008; Doulgeraki i sar., 2012). Ipak visoke koncentracije ugljen-dioksida podstiču klijanje spora *Clostridium botulinum* (Mullan i McDowell, 2003). Uticaj pakovanja u modifikovanoj atmosferi na *Listeria monocytogenes* još uvek nije jasan, jer su rezultati istraživanja kontradiktorni (Chen i sar., 2012). Rezultati istraživanja, koje su sproveli Wilkinson i sar. (2006), pokazuju da ni 100% koncentracija ugljen-dioksida ne utiče na ovu bakteriju u svežem svinjskom mesu, dok rezultati studije koji su sproveli Nissen i sar. (2000) u kojoj su poredili uticaj 30 i 60% ugljen-dioksida u pakovanju na *Listeria monocytogenes* u mlevenom goveđem mesu, pokazuju da više koncentracije ugljen-dioksida inhibiraju rast ove bakterije. U istom istraživanju utvrđeno je da antimikrobno dejstvo visoke koncentracije ugljendioksida u pakovanju sa modifikovanom atmosferom nije značajno uticalo na smanjenje broja *Salmonella* spp., kada je upakovano mleveno meso skladišteno pri temperaturi od 10 °C, dok je broj bakterija bio značajno manji na temperaturi od 4 °C. Za

razliku od *Salmonella* spp. pokazano je da je *Yersinia enterocolitica* mnogo manje otporna, pa je tako njen rast inhibiran i u atmosferama sa nižim i sa višim koncentracijama ugljen-dioksida bez obzira da li je temperatura skladištenja bila 4 ili 10 °C (Nissen i sar., 2000). Azot, koji se u modifikovanu atmosferu dodaje pre svega zbog održavanja konkavitet pakovanja, inhibira rast aerobnih mikroorganizama koji izazivaju kvar, ali ne sprečava rast anaerobnih bakterija (Mullan, 2002).

### **2.3.8. Aktivna, inteligentna pakovanja i primena novih tehnologija u sistemima pakovanja mesa i proizvoda od mesa**

Tradicionalni načini pakovanja imaju za cilj da obezbede mehaničku potporu hrani i štite je od spoljašnjih uticaja kao što su mikrobiološka, hemijska i fizička kontaminacija, vlažnost, kiseonik, svetlost, insekti i drugi potencijalni kontaminenati. Osnovna uloga ovih pakovanja je statična i inertna, a interakcija između hrane i pakovanja svedena je na minimum (Robertson, 2006; Lee i Mijanur Rahman, 2014). Tokom protekle dve decenije upotreba inovativnih tehnologija omogućila je razvoj pakovanja koja će poboljšati bezbednost i kvalitet proizvoda, istovremeno prateći trendove potrošačkog društva. U skladu sa Direktivom Evropske unije o materijalima i predmetima koji dolaze u dodir s hranom, koja je stupila na snagu 2004. Godine, (Regulation 1935/2004), dopušteno je uvođenje „aktivne“ i „inteligentne“ ambalaže (Lee i Mijanur Rahman, 2014).

Pod aktivnim pakovanjima podrazumeva se inkorporacija određenih aditiva u sistem pakovanja koji imaju ulogu da apsorbuju ili otpuštaju supstance iz pakovanja u hranu ili iz hrane u okruženje i na taj način menjaju uslove u pakovanju u cilju održavanja ili poboljšanja kvaliteta i bezbednosti prozvoda i produžavanja njegove održivosti (Ahvenainen, 2003; Hutton, 2003; Kerry i sar., 2006; Lee i Mijanur Rahman, 2014). Postoji široki spektar primene aktivnih pakovanja u pakovanju mesa i proizvoda od mesa, a u zavisnosti od uloge koju imaju mogu se podeliti na apsorbere vlage, emitere i skupljače ugljen-dioksida, skupljače/hvatače kiseonika, antioksidativne i antimikrobne sisteme pakovanja (Kerry i sar., 2006; Realini i Marcos, 2014). Antimikrobna pakovanja predstavljaju jedan od najistraživanijih vrsta aktivnih pakovanja za pakovanje mesa. Antimikrobna pakovanja mogu sadržati jedan sloj koji je premazan tj. obložen nekom antimikrobnom supstancom ili supstance koje poseduju antimikrobne aktivnosti mogu biti inkorporirane u sam materijal za pakovanje (Kerry i sar., 2006).

Inteligentna pakovanja su dizajnirana tako da omogućavaju konstantan monitoring uslova hrane i promenama sredine u pakovanju (Evropska Komisija, 2009). Inteligentna pakovanja omogućavaju dobavljaču ili potrošaču da se informiše o stanju hrane u pogledu načina skladištenja, svežine ali i bezbednosti, pružajući informacije o kvalitetu i stanju proizvoda tokom celog procesa distribucije i skladištenja (Silvestre i sar., 2011; Realini i Marcos, 2014). Inteligentna pakovanja su nastala ugrađivanjem posebnih uređaja u konvencionalne materijale za pakovanje u cilju monitoringa integriteta pakovanja i temperaturnih uslova u kojima se čuva proizvod. Ovakav način pakovanja je pre svega pružao informacije o roku trajanja proizvoda. Kod određivanja datuma na pakovanju koji označava isticanje roka trajanja neke hrane pretpostavlja se da se ta hrana skladišti na propisan način i čuva u optimalnim uslovima (temperatura, koncentracija O<sub>2</sub>, vlažnost i dr.). Međutim, u praksi to nije uvek slučaj i dešava se da odstupanja od preporučenih uslova skladištenja dovode do prerenog kvara hrane koji može dovesti do ugrožavanja zdravlja potrošača usled prisustva nekog toksina ili patogenog mikroorganizma (Silvestre i sar., 2011; Cusheen i sar., 2012). Tehnologija intelligentnih pakovanja se zasniva na ugrađivanju indikatora, senzora ili barkodova i radiofrekventne identifikacije u sistem MAP i vakuum pakovanja (Kerry i sar., 2006; Lee i Mijanur Rahman, 2014). Indikatori predstavljaju uređaje koji detektuju prisustvo ili odsustvo određene supstance ili stepen reakcije između dve ili više supstanci i o tome obaveštavaju promenom boje (Lee i Mijanur Rahman, 2014). Indikatori koji se koriste u sistemima intelligentnih pakovanja za meso su indikatori integriteta pakovanja, koji detektuju prisustvo kiseonika ili ugljendioksida, indikatori svežine i kvara koji detektuju proizvode metabolizma bakterija i vremensko/temperaturni indikatori koji detektuju mehaničke, hemijske, elektrohemijske, enzimske i mikrobiološke promene u pakovanju tokom skladištenja u zavisnosti od promene temperaturnih uslova dovodeći do ireverzibilnih promena u boji na deklaraciji (Lee i Mijanur Rahman, 2014; Realini i Marcos, 2014). Senzori predstavljaju uređaje koji se koriste za detekciju, lociranje ili kvantifikaciju energije ili materije, proizvodeći signal za detekciju ili merenje fizičkih ili hemijskih osobina na koje uređaj reaguje. Senzori se sastoje od receptora, koji pretvaraju fizičke ili hemijske informacije u energiju i tranduktora koji konvertuje ovu energiju u analitički signal. U intelligentnim pakovanjima za meso koriste se senzori za gas, koji detektuju kiseonik, ugljen-dioksid, ali i gasove koji nastaju kao proizvodi metabolizma bakterija kao što su vodonik-sulfid i amini (Lee i Mijanur Rahman, 2014). Biosenzori su analitički uređaji koji se koriste za detekciju, merenje i prenos informacija o fiziološkim promenama koje nastaju u prisustvu bioloških ili hemijskih agenasa (Lee i Mijanur Rahman, 2014). Sastoje se iz bioreceptora,

koji je organskog porekla i može biti enzim, antitelo, mikroorganizam, hormon ili nukleinska kiselina, i transduktora koji može biti elektrohemski, optički, kalorimetrijski i dr. (Realini i Marcos, 2014). Biosenzori se mogu koristiti u analizi sastava hrane (npr. proteini, vitamini, lipidi, ugljeni hidrati), u detekciji količine toksičnih supstanci pre i nakon procesa proizvodnje, u određivanju količine folne kiseline, biotina, vit. B<sub>12</sub>, pantotenske kiseline, ali i količine rezidua lekova, antibiotika i promotera rasta, naročito u mesu i medu (Lee i Mijanur Rahman, 2014). Biosenzori koji reaguju po principu specifični Ag-At mogu se inkorporirati i u barkod i detektovati prisustvo patogenih mikroorganizama kao što su *Salmonella* spp., *Escherichia coli* 0157:H7 ili *Listeria monocytogenes* (Lee i Mijanur Rahman, 2014; Realini i Marcos, 2014).

Novi načini pakovanja zahtevaju primenu ambalažnih materijala koja mogu da omoguće njihovu funkciju, zbog čega se ulažu veliki napor i za proizvodnjom novih i poboljšanih materijala za pakovanje (Rhim i sar., 2013). Jedna vrsta ovih materijala su i oni koji sadrže nanomaterijale. U zavisnosti od namene nanomaterijali se mogu proizvoditi od organskih i neorganskih jedinjenja, ali u oba slučaja imaju različite osobine od istih materijala većih dimenzija. Smanjenjem dimenzija dolazi do promena osobina materijala kao što su mehaničke, hemijske, magnetne, optičke osobine i električna i termička provodljivost, na čemu se i zasniva upotreba nanotehnologije u proizvodnji pakovanja (Ozimek i sar., 2010; Cushen i sar., 2012). Nanotehnologija je primenjena u svrhu proizvodnje polimernih materijala pre svega da bi regulisala propustljivost za gasove kao što su kiseonik i ugljen dioksid. Dokazano je da primena nanotehnologije u proizvodnji pakovanja takođe poboljšava i druge osobine pakovanja, kao što su osetljivost na UV zrake, stabilnost, čvrstinu, osetljivost na temperaturu, a može imati ulogu i u detektovanju i sprečavanju razvoja patogenih i mikroorganizama kvara (Silvestre i sar., 2011; Cushen i sar., 2012). Ovo su razlozi zbog kojih najveće svetske kompanije za proizvodnju pakovanja konstantno ispituju nanotehnologiju polimera u cilju objedinjavanja materijala za pakovanje sa poboljšanim mehaničkim, optičkim, temperaturnim i antibakterijskim osobinama, koji bi omogućili praćenje uslova hrane tokom transporta i skladištenja, te bi u bezbednom i održivom stanju dostavljena do potrošača (Silvestre i sar., 2011). Nanopolimerni materijali predstavljaju inovativno rešenje koje bi pored pomenutog, povećalo bezbednost proizvodnje uz ekonomске prednosti, jer bi smanjilo upotrebu energije u procesu proizvodnje, a istovremeno kao posledica povećane razgradivosti imalo povoljan uticaj na životnu sredinu, dovelo do smanjenja otpada i manje emisije štetnih gasova kao što je ugljen dioksid (Silvestre i sar., 2011). Da bi primena ove napredne tehnologije bila uspešno primenjena na globalnom tržištu

neophodno je savladati tehnološke, sigurnosne i zakonske prepreke, standardizovati proces proizvodnje i osigurati bezbedan proizvod koji će biti prihvatljiv za krajnjeg potrošača.

## **2.4. Etarska ulja**

Eatarska ulja predstavljaju smešu aromatičnih i lako isparljivih jedinjenja male molekulske mase (obično niže od 500 Da), koje se rastvaraju u lipidima i organskim rastvaračima. Sintetišu ih sekretorne žlezde različitih organa biljaka kao što su koren, rizom, stablo, kora, list, pupoljak, cvet, semenke, plodovi i dr., a skupljaju se u sekretornim čelijama, šupljinama, kanalima i čelijama epiderma odakle se ekstrahuju (Burt, 2004; Bakkali i sar., 2008; Tajkarimi i sar., 2010; Hyldgaard i sar., 2012; Bošković i sar., 2013b; El Asbahani i sar., 2015; Raut i sar., 2014). Etarska ulja između ostalog imaju ulogu da štite biljku od invazije mikroorganizama i herbivora na taj način što smanjuju njihov apetit i prihvatljivost biljke pre svega zbog intenzivnog ukusa i mirisa koji etarska ulja daju biljci. Takođe etarska ulja odbijaju određene po biljku štetne insekte istovremeno privlačeći one koji su bitni za opršivenje (Bakkali i sar. 2008; Hyldgaard i sar., 2012).

Ipak samo 10% biljnih vrsta poseduje sposobnost da sekretuje etarska ulja. One se nazivaju aromatične biljke i one pripadaju familijama *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Asteraceae*, *Rutaceae*, *Myrtaceae*, *Poaceae*, *Cupressaceae* i *Piperaceae* (Bruneton, 1999; El Asbahani i sar., 2015). Upotreba etarskih ulja kroz istoriju u medicinske svrhe i u proizvodnji parfema dobro je dokumentovana. Destilacija kao tehnika za dobijanje etarskih ulja korišćena je pre više od 2000 godina u Egiptu, Indiji i Persiji, a unapredili su je Arapi tokom devetog veka (Guenther, 1948; Bauer i sar., 2001; Burt, 2004). Do 13. veka farmakološke osobine etarskih ulja su opisana u farmakopejama, ali njihova upotreba u Evropi je dobila na značaju tek tokom 16. veka (Bauer i sar., 2001; Crosthwaite, 1998). Tokom 19. i 20. veka njihova upotreba u medicinske svrhe je gubila na značaju i etarska ulja su počela da se koriste kao začini. (Burt, 2004). Zbog svojih aromatičnih i bioloških osobina etarska ulja se danas koriste u prehrabenoj i farmaceutskoj industriji i u proizvodnji parfema.

### **2.4.1. Ekstrakcija i skladištenje etarskih ulja**

Prinos etarskog ulja zavisi od vrste i dela biljke iz kog se ekstrahuje, međutim, obično je veoma nizak i obično iznosi do 1% suvog biljnog materijala, što daje na značaju etarskim uljima (Svoboda i Greenaway, 2003; El Asbahani i sar., 2015). Postoji više metoda za ekstrakciju etarskih ulja. Klasične metode ekstrakcije etarskih ulja su destilacija (vodom i

parom), ekspresija (ceđenje) i ekstrakcija rastvaračima, ali u komercijalne svrhe najčešće korišćen način dobijanja je destilacija parom (Nakatsu i sar., 2000; Masango, 2005; Raut i sar., 2014; Calo i sar., 2015). Poslednjih godina razvile su se nove metode ekstrakcija biljnih ekstrakata u koje spadaju ultrazvučna ekstrakcija, ekstrakcija superkritičnim tečnostima, mikrotalasna ekstrakcija i ubrzana ekstrakcija pomoću rastvarača. Primenom ovih metoda skraćuje se vreme ekstrakcije, smanjuje upotreba rastvarača i prevenira zagađenje životne sredine (Wang i Weller, 2006). Ipak koja će se tehnika za ekstrakciju koristiti zavisi i od same namene etarskog ulja, pa se tako za parfeme koristi ekstrakcija lipofilnim rastvaračima i superkritičnim ugljendioksidom, a za upotrebu u hrani destilacija parom i ekspresija u slučaju dobijanja etarskog ulja iz citrusa (Hyldgaard i sar., 2012).

Nakon ekstrakcije, potrebno je na pravilan način skladištiti etarska ulja jer može doći do degradacije i promene hemijskog sastava etarskog ulja. U faktore koji utiču na degradaciju etarske ulja tokom skladištenja ubrajaju se izloženost kiseoniku, svetlosti (UV) i višim temperaturama. Oksidativnim promenama podložna su pre svega etarska ulja koja sadrže visoke koncentracije monoterpena koji, zbog dvostrukih veza između ugljenikovih atoma, reaguju sa kiseonikom. U literaturnim podacima mogu se naći podaci da etarska ulja nakon oksidacije gube svoje antimikrobne osobine, kao i da degradacijom terpena dolazi do formiranja supstanci koje mogu izazvati senzitivnost ukoliko se koriste na koži. Ovo se pre svega odnosi na etarska ulja koja sadrže visoke koncentracije linolena i  $\alpha$ -pipera (Tisserand i Young, 2012). Da bi zadržala osobine nakon ekstrakcije potrebno je da etarska ulja budu skladištena u dobro zatvorenim kontejnerima ili tamnim bocama, u hladnim i tamnim uslovima (Burt, 2004; Tisserand i Young, 2012).

#### **2.4.2. Hemijski sastav etarskih ulja**

Hemijski sastav, a samim tim i osobine etarskih ulja koje su njime uslovljene variraju zavisnosti od podneblja, klime, sastava i osobina zemljišta, organa biljke iz koje se ekstrahuju ali i faze ciklusa u kojoj se biljka nalazi. Najjaču antimikrobnu aktivnost ispoljavaju etarska ulja koja su ekstrakovana iz biljaka tokom ili neposredno nakon cvetanja (Raut i sar., 2014).

Metode koje se koriste za određivanje hemijskog sastava etarskog ulja su gasna hromatografija (GC), HPLC- visoko tečna hromatografija, masena spektrometrija (MS) i spektofotometrija sa nuklearno magnentnom rezonancom. Hromatografske metode se koriste da razdvoje etarska ulja na osnovne komponente i često se koristi u kombinaciji sa MS i NMR. Unapređenje ovih analitičkih tehnika tokom poslednjih godina povećalo je njihovu

osetljivost i mogućnost detekcije čak i jedinjenja koja se nalaze u tragovima (npr. pesticide) (Tisserand i Young, 2012).

Etarska ulja su smeše kompleksnog sastava i najčešće sadrže između 20 i 60 komponenti. Obično su dve ili tri komponente dominantne i čine 20-70% etarskog ulja, dok su ostala jedinjenja zastupljena u nižim koncentracijama ili se nalaze samo u tragovima (Burt, 2004; Bakkali i sar., 2008). Etarska ulja se sastoje iz terpena, terpenoida i drugih aromatičnih i alifatičnih jedinjenja male molekulske mase.

Terpeni su grupa strukturno i funkcionalno različitih jedinjenja (Bakkali i sar., 2008). Terpeni nastaju u dva biosintetska puta: mevalonatnom putu i deoksiksilozo-fosfatnom putu. Terpeni nastaju povezivanjem izoprena: izopentenilpirofosfata (IPP) i njegovog izomera dimetilalilpirofosfata (DMAPP) (Dewick, 2002). Terpenoidi su terpeni koji su podlegli enzimskim modifikacijama i sadrže kiseonik, a položaj npr. metil grupe je ili promenjen ili je nema. Na osnovu broja ugljenikovih atoma terpeni se mogu podeliti na hemiterpene (C5), monoterpene (C10), seskviterpene (C15), diterpene (C20), triterpene (C30), tetrapentene (C40) i politerpene (Bakkali i sar., 2008).

Monoterpeni se sastoje iz dve jedinice izoprena i čine i do 90% sastava etarskih ulja. Na osnovu građe molekula monoterpeni se dele na aciklične i ciklične. Na osnovu prirode funkcionalne grupe razlikuju se:

Karbidi:

- aciklični: mircen, ocimen, itd.
- monociklični: terpinen, p-cimen, idt.
- biciklični: pipen, kamfen, sabinen, idt.

Alkoholi:

- aciklični: geraniol, linalol, citronelol, lavandulol, nerol, itd.
- monociklični: mentol, a-terpineol, karveol
- biciklični: borneol, hrisantenol, tujan-3-ol, idt.

Aldehydi:

- aciklični: geranal, neral, citronelal, itd.

Ketoni:

- acyclic: tegetone, idt.
- monociklični: karvon, pulegon, piperiton, itd.
- biciklični: kamfor, tujon, ombelulon, pinocamfon, pinokarvon, idt.

Estri:

- aciklični: linalil acetat ili propionat, citronelil acetat, itd.

- monociklični: mentil ili terpinil acetat, itd.

- biciklični: isobornil acetate, itd.

Etri: 1,8-cineol, mentofuran, itd.

Peroksidi: askaridol, itd.

Fenoli: timol, karvakrol, itd.

Seskviterpeni se sastoje od tri izoprenske jedinice. Na osnovu funkcionalne grupe razlikuju se:

Karbidi: azulen, b-bisabolen, kadinen, b-kariofilen, logifolen, elemen, zingiberen, itd.

Alkoholi: bisabol, kedrol, b-nerolidol, farnesol, karotol, b-santalol, viridiflorol, itd.

Ketoni: germakron, notkaton, *cis*-longipinan-2,7- dion, b-vetinon, turmeron, itd.

Epoksiđi: caryofilen oxide, humulen epoksid, itd.

Aromatična jedinjenja, derivati fenilpropana, zastupljena su u manjim koncentracijama. U aromatična jedinjenja koja se mogu naći u etarskim uljima spadaju aldehidi (cinamaldehid), fenoli (eugenol), metoksil derivati (anetole, elemicin, estragol, metileugenol), metilen dezoksi jedinjenja (apiol, miristicin, safrol). Ove aromatične supstance se nalaze u anisu, cimetu, karanfiliću, muskatnom orahu, peršunu, šafranu, teragonu i biljkama iz familije *Apiaceae*, *Lamiaceae*, *Myrtaceae* i *Rutaceae* (Bakkali, 2008).

Pored pomenutih, etarska ulja sadrže veliki broj različitih jedinjenja, koja nastaju kao proizvod degradacije nezasićenih masnih kiselina, laktona, terpena, glikozida. U ostala jedinjenja spadaju i komponente koje sadrže sulfur i nitrogen, a njihovi predstavnici su alicin i alil izotiocianat (Bošković i sar., 2013).

#### **2.4.3. Biološka aktivnost etarskih ulja**

Lipofilna priroda i mala molekulska masa etarskih ulja omogućava im lak prolazak kroz ćelijske membrane u ćeliju gde mogu da ispolje različite efekte, koji su uglavnom uslovljeni hemijskim sastavom etarskih ulja (Hyldgaard i sar, 2012; Gautam i sar., 2014). Etarska ulja ispoljavaju antibakterijske, antivirusne, antioksidativne, antiinflamatorne, antiparazitske, insekticidne i antikancerogene efekte (Burt, 2004; Miguel, 2010; Hylgraad, 2012; Bošković i sar., 2013). Pre svega zbog svojih izraženih antioksidativnih i antimikrobnih osobina etarska ulja se koriste u lečenju i kontroli nekih ozbiljnih oboljenja kao što su kardiovaskularna oboljenja, dijabetesa, Alchajmerove bolesti i kancera (Gautam i sar., 2014).

Postoji više mogućih načina na koje etarska ulja ispoljavaju antimutageno i antikancerogeno dejstvo (Bakkali, 2008; Gautam i sar., 2014). Istraživanja pokazuju da etarska ulja inhibiraju

penetraciju mutagena u ćeliju (Kada i Shimoj, 1987), inaktiviju mutagene tako što ih vezuju i vezuju slobodne radikale koje mutageni proizvode ili aktiviraju antioksidativne enzime ćelije (Hartman i Shankel, 1990; Sharma i sar., 2001; Ipek i sar., 2005), sprečavaju konverziju promutagenih supstanci u mutagene pomoću citohrom P450 oksidaze (Ramel i sar., 1986; De Flora i Ramel, 1988; Kuo i sar., 1992; Waters i sar., 1996; Gomes-Carneiro i sar., 2005). Takođe pominje se mogućnost da etarska ulja mogu da interferiraju sa sistemom za reparaciju DNK nakon genotoksičnih lezija (Kada i Shimoj, 1987; Kuroda i Inoue, 1988; De Flora i sar., 1985, 1992a,b; Bronzetti i sar., 1992; Vukovic-Gacic i sar., 2006; Bakkali, 2008). Antikancerogeni efekat etarska ulja ostvaruju tako što izazivaju apoptozu ćelija, na taj način što interferiraju sa prenosom signala, genetičkim materijalom i drugim aktivnostima u ćeliji. Istraživanja pokazuju da određena etarska ulja ili njihove komponente imaju efekat na različite proteine kao što je Akt protein koji reguliše tumor supresor protein p53, kao i na transkripcione faktore poput NF- $\kappa$ B i aktivator protein-1 (AP-1) koji ima ključnu ulogu u diferencijaciji, proliferaciji, transformaciji i apoptozi ćelije (Gautam i sar., 2014). Neka etarska ulja imaju i antiangiogeni efekat sprečavajući na taj način snadbevanje ćelije tumora nutritivnim materijama, njegov rast i dezaminaciju odnosno stvaranje metastaza. Na osnovu dosadašnjih istraživanja pretpostavlja se da etarska ulja ostvaruju antiangiogeni efekat tako što inhibiraju endotelni faktor rasta (VEGF) i samnjuje koncentraciju matriks metaloproteinaza.

Rezultati velikog broja istraživanja pokazali su da etarska ulja ekstrahovana iz različitih biljaka poseduju antikancerogeni potencijal na kancer usta, dojke, pluća, prostate, jetre, mozga, kolorektalni kancer, kao i na leukemiju. I komponente etarskih ulja kao što su karvakrol, dlimonen, geraniol, mircen, perilil alkohol (POH),  $\alpha$ -humulen,  $\beta$ -kariofilen, timol, citral itd. pokazuju citotoksični efekat na linije ćelija kancera, ali i *in vivo*. (Gautam i sar., 2014).

Neka etarska ulja, poput etarskog ulja kamiliace, ruzmarina, lavande, eukaliptusa poseduju antiinflamatorna dejstva. Ovaj efekat etarskih ulja pripisuje se pre svega antioksidativnom potencijalu etarskih ulja, ali i njihovoj interakciji sa proinflamatornim medijatorima poput citokina i regulatornim transkripcionim faktorima. Etarska ulja i njihove komponente interferiraju sa ciklooksigenaznim i lipooksigenaznim metabolizmom arahidonske kiseline i sprečavaju stvaranje eikosanoida. Istraživanja pokazuju da etarska ulja Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller), anise star (*Illicium verum* Hook f.), bergamot (*Citrus aurantium* subsp. *bergamia* Risso), lišča cimeta (*Cinnamomum zeylanicum*), eukaliptusa (*Eucalyptus globulus*), juniper bobica (*Juniperus communis*), lavande (*Lavandula officinalis*), timijana (*Thymus*

*vulgaris*) and ylang-ylang (*Cananga odorata*), u kojima su dominantne komponente bile limonen, linalil acetat,  $\beta$ -trans-kariofilen, 1,8-cineol, *p*-cimen, timol i eugenol ispoljavaju jaku inhibitornu aktivnost na lipooksigenaze. Etarsko ulje ekstrahovano iz *Torreya nucifera* Siebold, koje se uglavnom sastoji iz limonena, d-3-karena i  $\alpha$ -pinena, inhibiralo je COX-2 (ciklooksigenazu-2) i značajno smanjilo produkciju prostaglandina. Hemijsko jedinjenje 1,8-cineol, koje je komponenta mnogih etarskih ulja inhibiše sintezu leukotrijena (LTB4) i prostaglandina (PGE) interferirajući sa oba metabolička puta arahidonske kiseline. Rezultati velikog broja ispitivanja pokazuju da različita etarska ulja i njihove komponente inhibiraju i smanjuju produkciju citokina, odnosno oslobađanje IL-1, TNF- $\alpha$ , ali i IL-2, IL-6, IL-8, IL-10 iz različitih ćelijskih linija koje su izložene delovanju lipopolisaharida (LPS).

Egarska ulja pokazala su antiinflamatorni efekat i u *in vivo* uslovima pa je tako ispitivanje sprovedeno na miševima kod kojih je kolitis indukovani trinitrobenzensulfonskom kiselinom (TNBS), pokazalo da kombinacija etarskog ulja timijana kod koga su dominantne komponente bile *p*-cimen i timol i etarskog ulja origana u čijem sastavu je karvakrol bio najzastupljenije jedinjenje, smanjilo količinu IL-1 $\beta$  i IL-6 (Miguel, 2010).

Inhibitorni efekat nekih etarskih ulja na produkciju proinflamatornih citokina je posredovan supresijom gena ekspresije ovih citokina. Neka etarska ulja inhibiraju i inducibilnu azotoksid sintetazu smanjujući na taj način stvaranje azot-oksida, koji ima značajnu ulogu u inflamaciji.

S obzirom na to da se etarska ulja sastoje od velikog broja hemijskih komponenata i njihovo antibakterijsko dejstvo je zasnovano na više različitih mehanizama. Različite komponente etarskih ulja samostalno ili sinergistički deluju na različite strukture bakterijske ćelije. Zbog svoje hidrofobne prirode etarska ulja interaguju sa lipidnom membranom bakterijske ćelije i povećavaju njenu permeabilnost. Permeabilnost ćelijske membrane nastaje kao rezultat promene membranskog potencijala, kolapsa protonske pumpe, izlaska jona iz ćelije što za posledicu ima lizu i ćelijsku smrt. Smatra se da je ovaj mehanizam najodgovorniji za oštećenje bakterijske ćelije (Bošković i sar., 2013) Za oštećenje ćelijske membrane odgovorna su pre svega fenolna jedinjenja koja sadrže hidroksilnu grupu, kao što su karvakol, timol i eugenol, zbog kojih etarska ulja i deluju antibakterijski na bakterije prenosive hranom. Komponente etarskih ulja ne deluju samo na lipide membrane, već i na proteine kao što je enzim ATP-aza. Rezultati istraživanja su pokazali da etarska ulja mogu delovati i na druge enzime koji su uključeni u regulaciju energije ili odgovorne za sintezu strukturalnih komponenti ćelije. Elektronska mikroskopija predstavlja metodu izbora za posmatranje efekta etarskih ulja na mikroorganizme (Burt, 2004).

#### **2.4.3. Upotreba etarskih ulja u mesu i proizvodima od mesa**

Bezbednost hrane predstavlja značajan zdravstveni i ekonomski problem. Tokom 2005.godine Svetska zdravstvena organizacija (WHO) prijavila je 1,8 miliona smrtnih slučajeva nastalih kao posledica dijarejalnih bolesti uzrokovanih konzumuiranjem kontainirane hrane i vode (Sofos, 2008; Newell i sar., 2010). *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., enterohemoragična *E. coli*, uključujući i serotip O157:H7, *Listeria monocytogenes* kao i mnoge druge bakterije uzrokovači bolesti prenosivih hranom odgovorne su za milione slučajeva oboljenja godišnje na globalnom nivou. Ove bakterije mogu se naći u različitim namirnicima biljnog i životinjskog porekla, ali naročit značaj kao izvor patogena ima meso, koje zbog sadržaja biološki visoko vrednih proteina, masti, gvožđa, vitamina B grupe i drugih nutrijenata ima značajnu ulogu u ishrani ljudi istovremeno predstavljajući pogodnu sredinu za rast i razmnožavanje mikroorganizama (Bacon i Sofos, 2003; Sofos, 2008; Baltić i sar., 2010; Linscott, 2011; de Castro Cardoso i dos Reis Baltazar Vicente, 2013). Uprkos decenijskim istraživanja i uloženih napora u njihovoj kontroli, poboljšanju higijenskih procesa proizvodnje, preduzetih mera suzbijanja i prevencije, konstantnog monitoringa bolesti prenosive hranom i dalje predstavljaju veliki problem (Burt, 2004; Sofos, 2008; Newell i sar., 2010; Linscott, 2011). Česta upotreba antibiotika, kako u humanoj tako i u veterinarskoj medicini, rezultirala je pojavom rezistencije na različite antimikrobne lekove kod bakterija uzrokovača bolesti prenosivih hranom (Doyle i Erickson, 2006; Sofos 2008; Tohidpour i sar., 2010). Osim patogena prenosivih hranom, sa zdravstvenog aspekta i dodavanje soli i hemijskih aditiva predstavlja sve veći problem u proizvodnji mesa i proizvoda od mesa. I pored veoma značajne uloge u stvaranju senzornih i strukturnih osobina mesa, upotreba soli povezana je sa pojavom hipertenzije i povećanim rizikom od kardiovaskularnih oboljenja, zbog čega redukovanje koncentracije dodate soli predstavlja potrebu, ali i izazov za mesnu industriju (Desmond, 2006; Sofos 2008; Weiss i sar., 2010). Ipak redukovanje koncentracije dodate soli ispod uobičajeno korišćenih, omogućava rast mikroorganizama kvara, dovodi do smanjenja održivosti proizvoda, koji kao takav predstavlja rizik po zdravlje potrošača (Desmond, 2006; Weiss i sar., 2010; Bošković i sar., 2013). Opasnost po zdravlje potrošača predstavljaju i sintetski antioksidansi koji se dodaju u meso u cilju sprečavanja ili usporavanja procesa oksidacije pre svega polinezasićenih masnih kiselina u mesu (Maqsood i sar., 2015; Zhang i sar., 2013). Sintetski antioksidansi poput butil-hidroksitoluena (BHT), butil-hidroksianizola (BHA), tercijarni-butil-hidrokvinona i propel-galata (PG) i drugi mogu

izazvati mutagenezu i/ili kancerogenezu (Karre i sar., 2013; Falowo i sar., 2014; Bazargani-Gilani i sar., 2015; Maqsood i sar., 2015).

Kao rezultat svega navedenog javlja se potreba za novim antimikrobnim sredstvima koji mogu da se dodaju u meso u cilju inhibicije patogenih bakterija i mikroorganizama kvara, a da pritom predstavljaju prirodnu alternativu korišćenim hemijskim aditivima i konzervansima i ne dovode do pojave bakterijske rezistencije (Bošković i sar., 2012). Etarska ulja predstavljaju dobru alternativu, naročito jer bi mogla da se koriste u konceptu organske proizvodnje, prirodne i funkcionalne hrane, koja postaje sve prihvatljivija i popularnija kod potrošača (Burt, 2004; Sofos 2008; Gutierrez, 2009).

Da bi ostvarilo svoje dejstvo u mesu, etarska ulja se mogu dodati u hranu za životinje koje se koriste u proizvodnji mesa, mogu se naneti direktno na povšinu mesa ili inkorporirati u aktivne sisteme pakovanja (Velasco i Williams, 2011). Rezultati istraživanja pokazuju da etarska ulja imaju inhibitorni efekat na mnoge patogene mikrorganizme mesa, kao i da uspešno preveniraju oksidativne promene i utiču na produženje održivosti mesa i proizvoda od mesa.

Istraživanja pokazuju da efikasnost etarskih ulja u *in vitro* uslovima i kada se primenjuju na modelu hrane (u ovom slučaju mesa) nije ista, kao i da ona zavisi ne samo od vrste, hemijskog sastava i koncentracije upotrebljenog etarskog ulja, već i vrste bakterije na koju se deluje, načina aplikacije etarskog ulja i od fizičko- hemijskih karakteristika mesa odnosno modela hrane koje se koristi (pH vrednost,  $a_w$  vrednost, prisustvo kiseonika, temperatura) (Burt, 2004; Chouliara i sar., 2007; Gutierrez i sar., 2008; Simitzis i sar., 2008; Gutierrez i sar., 2009; Govaris i sar., 2010, Emiroğlu i sar., 2010; Lv i sar., 2011; Hsouna i sar., 2011; Karabagias i sar., 2011; Bajpai i sar., 2012; Awaisheh, 2013; Khanjari i sar., 2013; Teixeira i sar., 2013). Prisustvo visokih koncentracija masti i proteina u mesu i hrani generalno smanjuje aktivnost etarskih ulja. Zbog lipofilne prirode etarska ulja se rastvaraju u lipidima i samim tim je smanjeno njihovo dejstvo na bakterije, a neki podaci ukazuju da razlog tome može biti i manja količina vode u mesu u poređenju sa medijima koji se koriste u uslovima *in vitro* dokazivanju aktivnosti etarskih ulja, što usporava prolazak etarskog ulja do target mesta u bakterijskoj ćeliji (Burt, 2004).

U zavisnosti od vrste biljke iz koje je ekstrahovano etarsko ulje, njegovog hemijskog sastava i načina na koji se aplikuju etarska ulja mogu imati negativne ili pozitivne efekte na organoleptičke osobine mesa i proizvoda mesa. Da bi se smanjio efekat etarskih ulja na senzorne osobine namirnica najbolji način njihove aplikacije je kroz sisteme za pakovanje (Hyldgaard i sar., 2012).

#### **2.4.4. Bezbednosni aspekt upotrebe etarskih ulja**

S obzirom na široki spektar bioloških aktivnosti koje etarska ulja ispoljavaju očigledno je da se ovi biljni ekstrakti mogu upotrebljavati u različite svrhe. Međutim, pre upotrebe etarskih ulja na ljudima, bilo kao aromaterapije, kozmetičkih preparata, upotrebom u medicinske svrhe ili kao konzervansa u hrani, neophodno je utvrditi bezbednost njihove primene.

Većina etarskih ulja smatra se bezbednim za upotrebu kao aromatične supance u hrani i kategorisana su kao GRAS- generally recognized as safe. Da bi se neka supstanca smatrala bezbednom za upotrebu neophodno je da se utvrdi njen hemijski sastav i čistoća, kao i prisustvo sekundarnih jedinjenja. Za etarska ulja neophodno je da pored hemijskog sastava budu utvrđene i koncentracije u kojima su prisutna identifikovana jedinjenja. Da bi se etarska ulja kategorizovala kao GRAS nije neophodno definisati tačan hemijski sastav, jer on varira, ali je potrebno definisati gornju granicu odnosno maksimalno dozvoljenu koncentraciju u kojoj smeju da budu prisutna određena jedinjenja. Takođe, neophodno je utvrditi toksični, genotoksični i kancerogeni potencijal. Istraživanja na više od 30 hemijskih jedinjenja, najzastupljenijih komponenti velikog broja etarskih ulja (mentol, karvon, limonen, citral, cinamaldehid, benzaldehid, benzil acetat, 2-etyl-1-heksanol, metil antranilat, geranil acetat, furfural, eugenol, itd.) pokazuju da čak i kad se unose u većim količinama od dnevnog unosa, većina ovih jedinjenja ne pokazuju kancerogeni potencijal (Smith i sar., 2005).

Komponente etarskih ulja koje su registrovane kao bezbedne za upotrebu i za koje se smatra da ne predstavljaju opasnost za zdravlje potrošača između ostalog su karvakrol, karvon, cinamaldehid, citral, p-cimen, eugenol, limonen, mentol i timol. Estragol i metil eugenol su izbrisani sa te liste 2001. godine zbog genotoksičnosti (Commission Decision of 23 January, 2002). Burt, 2004. Takođe, zabeleženo je da pojedine komponente etarskih ulja mogu izazvati iritacije, kontaktne dermatitise i imati spazmogene efekte, kad se koriste kao aromaterapeutici (Burt, 2004; Tisserand i Young, 2012). Iako generalno nemaju kancerogene osobine neka etarska ulja nakon metaboličke aktivacije mogu delovati kao sekundarni kancerogeni. Pojedina etarska ulja mogu izazvati sekreciju estrogena i dovesti do nastanka estrogen-zavisnih kancera, a kancer može nastati i pod dejstvom fotosenzitivnih molekula poput flavina, cianina i porfirina, koji se takođe mogu naći u etarskim uljima (Bosković i sar., 2013) Zbog mogućih neželjenih dejstva neophodno je uraditi veliki broj ispitivanja pre nego što se neka supstanca ili etarsko ulje klasificuje kao bezbedno za upotrebu (Burt, 2004).

Čak i kad je etarsko ulje klasifikovano kao bezbedno za upotrebu u cilju postizanja dobre proizvođačke prakse, neophodno je naglasiti na deklaraciji, botaničko i geografsko poreklo

etarskog ulja, vegetativni stadijum biljke, deo biljke koji je korišćen i način ekstrakcije, procenat čistoće, fizičke osobine (specifična težina, refraktorni indeks, rastvorljivost itd.), hemijski sastav i namenu (Smith, 2005).

### **3. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA**

Cilj istraživanja u okviru ove doktorske disertacije bio je ispitivanje različitih načina pakovanja (vakuum i modifikovana atmosfera) i antimikrobnog efekta različitih koncentracija etarskih ulja origana i timijana, na *Salmonella* spp. i mikrobiološki status mesa (mezofilne bakterije, *Enterobacteriaceae*, bakterije mlečne kiseline), kao i ispitivanje antioksidativnih osobina pomenutih etarskih ulja i njihovog efekta na oksidativne promene lipidne frakcije, fizičko hemijske osobine i prihvatljivost mlevenog svinjskog mesa.

Shodno cilju ispitivanja postavljeni su zadaci:

1. Ispitivanje hemijskog sastava etarkih ulja origana i timijana;
2. Određivanje antioksidantne aktivnosti etarskog ulja origana i etarskog ulja timijana;
3. Određivanje antimikrobne aktivnosti etarskih ulja origana i timijana na *Salmonella* spp.;
4. Praćenje promena u broju bakterija *Salmonella* spp., u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa pakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu (30% O<sub>2</sub>/50% CO<sub>2</sub>/ 20% N<sub>2</sub>), sa i bez dodavanja etarskih ulja tokom petnaestodnevног skladištenja (nultog, trećeg, šestog, devetog, dvanaestog i petnaestog dana) pri temperaturi od 3±1 °C;
5. Praćenje mikrobioloшког statusa mlevenog mesa u uzorcima pakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu (30% O<sub>2</sub>/50% CO<sub>2</sub>/ 20% N<sub>2</sub>), sa i bez dodavanja etarskih ulja tokom petnaestodnevног skladištenja (nultog, trećeg, šestog, devetog, dvanaestog i petnaestog dana) pri temperaturi od 3±1 °C i to:
  - ukupnog broja mezofilnih bakterija
  - ukupnog broja enterobakterija
  - ukupnog broja bakterija mlečne kiseline
6. Ispitivanje sadržaja vode, masti, proteina, pepela u mlevenom svinjskom mesu;
7. Praćenje vrednosti ukupno isparljivog azota tokom petnaest dana skladištenja na temperaturi od 3±1 °C (nultog, trećeg, šestog, devetog, dvanaestog i petnaestog dana) u uzorcima mlevenog mesa pakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu (30% O<sub>2</sub>/50% CO<sub>2</sub>/ 20% N<sub>2</sub>), sa i bez dodavanja etarskih ulja;
8. Ispitavanje pH vrednosti uzoraka tokom petnaest dana skladištenja na temperaturi od 3±1 °C (nultog, trećeg, šestog, devetog, dvanaestog i petnaestog dana) u uzorcima mlevenog mesa pakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu (30% O<sub>2</sub>/50% CO<sub>2</sub>/ 20% N<sub>2</sub>), sa i bez dodavanja etarskih ulja;

9. Merenje količine TBARS-vrednost (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) – malondialdehida i kiselinskog broja u uzorcima mlevenog mesa pakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu (30% O<sub>2</sub>/50% CO<sub>2</sub>/ 20% N<sub>2</sub>), sa i bez dodavanja etarskih ulja, tokom petnaest dana skladištenja na temperaturi od 3±1 °C (nultog, trećeg, šestog, devetog, dvanaestog i petnaestog dana);
10. Praćenje sastava atmosfere unutar pakovanja mlevenog mesa u modifikovanoj atmosferi, tokom petnaest dana skladištenja na temperaturi od 3±1 °C (nultog, trećeg, šestog, devetog, dvanaestog i petnaestog dana);
11. Praćenje promena senzornih osobina (mirisa i boje sirovog mlevenog mesa) tokom petnaest dana skladištenja na temperaturi od 3±1 °C (nultog, trećeg, šestog, devetog, dvanaestog i petnaestog dana) u uzorcima pakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu (30% O<sub>2</sub>/50% CO<sub>2</sub>/ 20% N<sub>2</sub>), sa i bez dodavanja etarskih ulja.

## **4. MATERIJAL I METODE**

### **4.1. Materijal**

#### **4.1.1. Etarska ulja i aktivne komponente**

Egarska ulja timijana i origana nabavljeni su od kompanije Heba doo. (Beograd, Srbija), dok su aktivne komponente timol, karvakrol, eugenol i cinamaldehid nabavljeni su od kompanije Essentico (Kula, Srbija). Etarska ulja i aktivne supstance skladištene su u neprozirne staklene boce na temperaturi frižidera od  $4\pm1$  °C.

#### **4.1.2. Meso**

Svinjsko meso preuzeto je u lokalnom objektu za klanje krupne stoke koji ima uveden HACCP sistem i registrovan je kao izvozni objekat. Za ispitivanje korišćeni su mišići buta svinja meleza Jorkšira x Landrasa telesne mase između 100 i 105 kg. Sa površine komada mesa je uklonjeno masno tkivo i fascije nakon čega je meso samleveno u mašini za mlevenje sa promerom otvora na ploči od 4 mm. Meso je u plastičnim kesama u hladnom lancu dostavljeno u laboratoriju.

#### **4.1.3. Sojevi *Salmonella* spp.**

Za izradu eksperimenta pripremljeni su sojevi *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028), *Salmonella* Infantis (6, 7 : r : 1, 5) i *Salmonella* Montevideo (1, 3, 19 : g, s, t :-). Od prekonoćnih (18h) bujonskih kultura (TSB, Merck, Nemačka) pripremljen je koktel *Salmonella* spp. za inokulaciju mesa koncentracije 6 log cfu/ml. Za ispitivanje minimalnih inhibitornih koncentracija etarskih ulja pored nabrojanih sojeva korišćene su i *Salmonella* Give (3, 10 : l.v : 1, 7). *Salmonella* Senftenberg (6, 7 : g, m, s : -)

#### **4.1.4. Plan eksperimenta**

Na početku eksperimenta ispitani je hemijski sastav etarskih ulja. Nakon toga određen je antioksidanti potencijal etarskih ulja i minimalna inhibitorna koncentracija etarskih ulja timijana i origana, ali i aktivnih principa, eugenola, timola, karvakrola i cinamaldehida potrebna za inhibiciju šest serovarijeteta *Salmonella* spp. i koktel serovarijeteta odabranog za

kontaminaciju mesa. Za dalje ispitivanje antibakterijskih i antioksidativnih osobina, na osnovu dobijenih rezultata i literaturnih podataka odabrane su po tri koncentracije (0,3%, 0,6% i 0,9%) etarskog ulja timijana i etarskog ulja origana. Mikrobiološka, fizičko hemijska i senzorna ispitivanja izvedena su iz dva dela, prilikom čega je u prvom delu ispitivan uticaj etarskog ulja timijana, a u drugom delu ogleda uticaj etarskog ulja origana.

U prvom delu ogleda ukupna količina sirovog mlevenog mesa podeljena je na polovine. Jedna polovina je kontaminirana koktelom *Salmonella* spp.. Nakon toga svaka kontaminirana i nekontaminirana polovina podeljena je na po četiri dela, od kojih u jedan deo nije dodato etarsko ulje, a u drugi, treći i četvrti deo je dodato 0,3%, 0,6% odnosno 0,9% etarskog ulja timijana. Nakon toga svaka grupa je podeljena na još dva dela prilikom koga je polovina pakovana u vakuum, a plovina u modifikovanu atmosferu (30% O<sub>2</sub>/50% CO<sub>2</sub>/20% N<sub>2</sub>). Za pakovanje uzoraka u modifikovanu atmosferu upotrebljena je mašina za pakovanje Multivac R 245, (Huenenberg, Švajcarska), a za pakovanje u vakuum Multivac C 500 (Multivac Verpackungsmaschinen, Wolfertschwenden, Nemačka). Kao materijal za pakovanje korišćena je folija OPA/EVOH/PE (orientisani poliamid/etilen vinil alkohol/polietilen, Dynopack, Polimoon, Kristiansand, Norveška) sa niskom propustljivošću za gas (stepen propustljivosti za O<sub>2</sub> – 3,2 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/dan pri 23 °C; za N<sub>2</sub> – 1 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/dan pri 23 °C; za CO<sub>2</sub> – 14 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>/dan pri 23 °C i za vodenu paru 15 g/m<sup>2</sup>/dan pri 38 °C). Zapremski odnos gas/uzorak u pakovanju je bio 2:1. Formirano je šesnaest grupa uzoraka:

1. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodataka etarskog ulja timijana;
2. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatak 0,3% etarskog ulja timijana;
3. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatak 0,6% etarskog ulja timijana;
4. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatak 0,9% etarskog ulja timijana;
5. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u vakuum bez dodataka etarskog ulja timijana;

6. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u vakuum, sa dodatak 0,3% etarskog ulja timijana;
7. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u vakuum, sa dodatak 0,6% etarskog ulja timijana;
8. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u vakuum, sa dodatak 0,9% etarskog ulja timijana;
9. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana;
10. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatak 0,3% etarskog ulja timijana;
11. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatak 0,6% etarskog ulja timijana;
12. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatak 0,9% etarskog ulja timijana;
13. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja timijana;
14. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u vakuum, sa dodatak 0,3% etarskog ulja timijana;
15. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u vakuum, sa dodatak 0,6% etarskog ulja timijana;
16. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u vakuum, sa dodatak 0,9% etarskog ulja timijana;

Svaka grupa sadržala je dovoljan broj uzoraka za ponavljanja i statističku obradu podataka mase  $100\pm 5$  g. Nakon pakovanja uzorci su čuvani tokom petnaest dana, pri temperaturi frižidera od  $3\pm 1$  °C. Tokom skladištenja nulti, treći, šesti, deveti, dvanaesti i petnaesti dan vršene su mikrobiološke analize (*Salmonella* spp., enterobakterije, mezofilne aerobne bakterije, bakterije mlečne kiseline), ispitivani hemijski (TBN- u svim uzorcima, kiselinski broj i količina malondialdehida-u nekontaminiranim uzorcima) i fizički (pH vrednost-u svim

uzorcima) parametri kao i promena koncentracije gasova u modifikovanoj atmosferi i promena senzornih osobina svinjskog mesa (nekontaminirani uzorci).

U drugom delu eksperimenta, uzorci su pripremljeni i ispitivani na identičan način, s tim što je umesto etarskog ulja timijana, dodavano etarsko ulje origana. U ovom delu eksperimenta takođe je formirano šesnaest grupa uzoraka:

1. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana;
2. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatak 0,3% etarskog ulja origana;
3. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatak 0,6% etarskog ulja origana;
4. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatak 0,9% etarskog ulja origana;
5. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana;
6. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u vakuum, sa dodatak 0,3% etarskog ulja origana;
7. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u vakuum, sa dodatak 0,6% etarskog ulja origana;
8. uzorci mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. pakovanog u vakuum, sa dodatak 0,9% etarskog ulja origana;
9. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana;
10. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatak 0,3% etarskog ulja origana;
11. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatak 0,6% etarskog ulja origana;

12. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatak 0,9% etarskog ulja origana;
13. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja origana;
14. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u vakuum, sa dodatak 0,3% etarskog ulja origana;
15. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u vakuum, sa dodatak 0,6% etarskog ulja origana;
16. nekontaminirani uzorci mesa pakovanog u vakuum, sa dodatak 0,9% etarskog ulja origana.

## **4.2. Metode**

Za ispitivanja su korišćene GC-MS, spektrofotometrijske, mikrobiološke, hemijske, fizičko-hemijske i senzorne analize.

### **4.2.1. Ispitivanje etarskih ulja**

#### **4.2.1.1. GC-MS analiza hemijskog sastava etarskih ulja**

Kvalitativna i semikvantitativna hemijska karakterizacija etarskih ulja izvršena je primenom gasne hromatografije kuplovane sa masenospektrometrijskom detekcijom (GC-MS). U Agilent Technologies series 6890 gasni hromatograf injektovan je 1  $\mu\text{L}$  rastvora ispitivanog ulja (10  $\mu\text{L}/\text{mL}$  u heksanu) u split modu, uz split odnos 1:10, pri temperaturi od 250 °C. Komponente su razdvojene na nepolarnoj *poli* (tetrametil-1,4-silfenilensilosanskoj) koloni HP-5ms (Agilent Technologies) dimenzija 30 m  $\times$  0,25mm, debljina sloja 0,25  $\mu\text{m}$ . Kolona je eluirana u temperaturno-programiranom režimu, uz startnu temperaturu od 50 °C, rampu 8 °C/min do 120 °C, 15 °C/min do 230 °C, 20 °C/min do 270 °C/min, i zadržavanje na finalnoj temperaturi od 16,92 min (ukupno vreme analize 35 min). Kao gas nosač korišćen je helijum visoke čistoće (5.0) u režimu konstantnog protoka od 1,0 mL/min. Efluent je preko transfer-linije održavane na 280 °C prosleden u Agilent Technologies series 5975 maseni spektrometar sa elektronском ionizацијом. Parametri masenog spektrometra bili su: energija elektrona 70 eV, temperatura jonskog izvora 230 °C, temperatura kvadrupola 150 °C. Primenjen je scan mod akvizicije, u m/z opsegu 35–400, i uz solvent delay od 2,30 min. U cilju postizanja boljeg slaganja između eksperimentalnih i bibliotečkih spektara, korišćen je

standard spectra tune. Podaci su obrađeni pomoću Agilent Technologies MSD ChemStation softvera (revizija E01.01.335) u kombinaciji sa AMDIS (ver. 2.64) i NIST MS Search softverom (ver. 2.0d). AMDIS je korišćen za dekonvoluciju masenih spektara koeluirajućih jedinjenja, a NIST MS Search je obezbedio algoritam za bibliotečku pretragu komplemenaran PBM algoritmu ChemStation-a. Za identifikaciju masenih spektara korišćene su spektralne biblioteke Wiley Registry of Mass Spectral Data 7th Edition i NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library 05. Identitet jedinjenja potvrđen je poređenjem linearnih retencionih indeksa sa literaturnim podacima. Ovim postupkom, bilo je moguće identifikovati 90 od ukupno 113 jedinjenja detektovanih u značajnom udelu. Relativni udeli jedinjenja odrešeni su metodom normalizacije, na osnovu površine pikova u TIC.

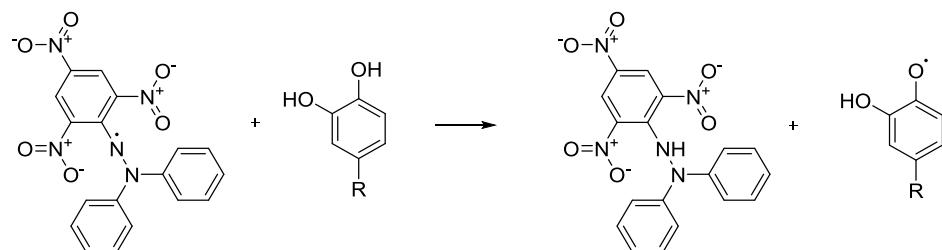
#### **4.2.1.2. Spektrofotometrijske analize- Antioksidantna aktivnost etarskih ulja**

Za analizu odabranih etarskih ulja (2 uzorka) korišćeni su testovi za određivanje antioksidantnog potencijala zasnovani na transferu elektrona (DPPH test, FRAP test), sposobnosti „hvatanja“ slobodnih radikala ( $\cdot\text{OH}$  i  $\cdot\text{NO}$ ) radikal) i inhibiciji lipidne peroksidacije (LP). Svi navedeni testovi urađeni su u mikrotitar pločama, a za spektrofotometrijska merenja korišćen je čitač ploča (Multiscan Spectum, Thermo Scientific). Ispitivani uzorci (etarska ulja) su za potrebe analiza rastvarani u etanolu. Intervali koncentracija korišćeni u različitim testovima iznosili su: 1,56-180  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (etarsko ulje/etanol; DPPH test); 5,2-330  $\mu\text{L}/\text{mL}$  ( $\cdot\text{NO}$ ); 0,16-10  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (LP); 7,8-500  $\mu\text{L}/\text{mL}$  ( $\cdot\text{OH}$ ); 2,5-10  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (FRAP test).

Rezultati ispitivanja antioksidantne aktivnosti izraženi su kao  $\text{IC}_{50}$  vrednosti (koncentracija etarskog ulja (radna) pri kojoj se postiže neutralizacija 50% radikala), osim u FRAP testu u kome je rezultat izražen u mg ekvivalenta askorbinske kiseline po 1 mL etarskog ulja, mg eqAA/mL EU).  $\text{IC}_{50}$  vrednosti su očitane sa odgovarajućih grafika zavisnosti inhibicije od radne koncentracije ispitivanog etarskog ulja konstruisanih u programu *Origin 8.0*. Procenat inhibicije računat je na osnovu formle:  $I (\%) = 100 - [(\text{A}_{\text{RP}} - \text{A}_{\text{KOR}}) / \text{A}_{\text{KONTROLA}}] \times 100$ . Svi testovi su urađeni u tri ponavljanja.

#### 4.2.1.2.a Kapacitet neutralizacije 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala (DPPH test)

*Princip:* Za određivanje sposobnosti neutralizacije DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) radikala ispitivanih etarskih ulja, korišćena je spektrofotometrijska metoda (Espin i sar., 2000), zasnovana na praćenju promene boje ljubičasto obojenog rastvora stabilnog azotcentriranog DPPH radikala u redukovanoj, žuto obojenoj formi, DPPH-H. Pojava žute boje objašnjava se sposobnošću pojedinih komponenti etarskog ulja da deluju kao donori vodonika ili elektrona, pri čemu DPPH prelazi u redukovani neutralni DPPH-H oblik:



#### Mehanizam neutralizacije DPPH radikala fenolnim jedinjenjima

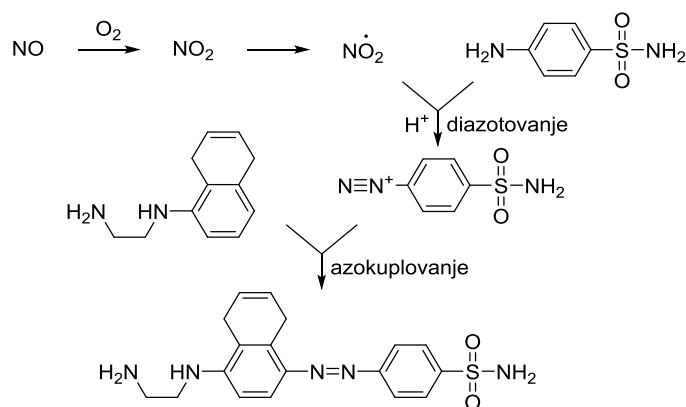
*Reagensi:* Osnovni rastvor DPPH reagensa, 3 mM (1,18 mg/mL): 11,8 mg DPPH reagensa u 10 mL etanola (n.s.). Stabilan dve nedelje na 4°C, čuvati ga u mraku u toku rada. Radni rastvor DPPH reagensa, 67,2 μM (26,4 μg/mL): 560 μL osnovnog rastvora DPPH reagensa u 25 mL metanola (n.s.). Priprema se neposredno pre upotrebe. Metanol. Etanol.

*Uzorci:* Pripremljene su serije duplih razblaženja ispitivanih etarskih ulja u etanolu, u intervalu početnih koncentracija 1,56-180 μL/mL (etarsko ulje/etanol).

*Postupak:* Test je izvođen u mikrotitar pločama, dimenzija 12x8 bunarčića, u tri ponavljanja radnih proba za svako razblaženje etarskog ulja i po jednom korekcijom za svako razblaženje etarskog ulja, i po tri ponavljanja kontrole sa jednom slepom probom. Svi reagensi i uzorci dodati su odgovarajućim multikanalnim pipetama. Radne probe sadrže: 100 μL radnog rastvora DPPH reagensa, 10 μL etarskog ulja, 190 μL metanola. Korekcije sadrže: 100 μL metanola, 10 μL etarskog ulja, 190 μL metanola. Kontrole sadrže 100 μL radnog rastvora DPPH reagensa, 10 μL etanola, 190 μL metanola. Spleta proba sadrži: 100 μL metanola, 10 μL etanola, 190 μL metanola. Meri se na čitaču mikrotitar ploča (Multiskan reader) po isteku 60 minuta inkubacije u mraku, na talasnoj dužini od 515 nm. *Faktor razblaženja uzorka:* 10/300. *Faktor razblaženja rastvora DPPH:* 100/300, *Cwell (DPPH)* = 8,8 μg/mL tj. 22,4 μM.

#### 4.2.1.2.b Kapacitet neutralizacije NO<sup>•</sup> radikala

*Princip:* Inhibicija NO<sup>•</sup> radikala određuje se spektrofotometrijski, merenjem smanjenja produkcije diazokompleksa (ružičasto obojenog) koji nastaje u reakciji nitrita i Griessovog reagensa (Green i sar., 1982). Rastvaranjem natrijum-nitroprusida (SNP) u vodenom rastvoru pri fiziološkom pH nastaje najpre NO<sup>•</sup> radikal koji u reakciji sa kiseonikom gradi nitritne jone. Smanjenje intenziteta ružičastog obojenja u prisustvu etarskog ulja u odnosu na kontrolne probe meri se na 546 nm.



*Gradjenje diazokompleksa u reakciji nitrita sa Griess-ovim reagensom*

*Reagensi:* Fosfatni pufer, pH=7,4; 0,067 M: 87,5 mg KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> i 481,8 mg Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O u 50 mL destilovane vode (n.s.). Natrijum-nitroprusid (SNP - sodium nitroprusside), 10 mM: 74,5 mg Na<sub>2</sub>[Fe(CN)<sub>5</sub>NO] x 2H<sub>2</sub>O u 25 mL fosfatnog pufera, pH=7,4; 0,067 M (n.s.). (1) *N*-(1-naftil)-etilendiamin dihidrochlorid (NEDA), 2 mg/mL: 50 mg NEDA u 25 mL destilovane vode. (2) Sulfanilamid, 20 mg/mL u fosformoj kiselini, 4%: 0,5 g sulfanilamida i 580 µL fosforne kiseline u 25 mL destilovane vode. Griess-ov reagens se priprema mešanjem jednakih zapremina rastvora (1) i (2).

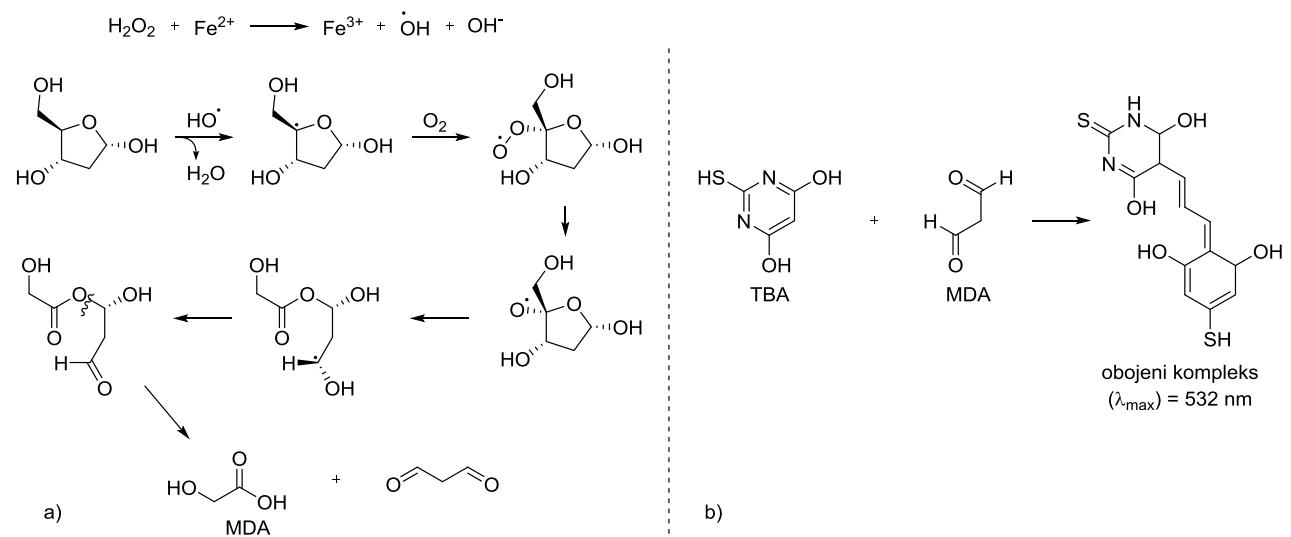
*Napomena:* smeša je stabilna 12 h na 4 °C dok su pojedinačni rastvori (1) i (2) stabilni 4 meseca.

*Uzorci:* Pripremljene su serije duplih razblaženja ispitivanih etarskih ulja u etanolu, u intervalu početnih koncentracija 5,2-330 µL/mL. Za svaku koncentraciju etarskog ulja su pripremljene po tri radne probe i jedna korekcija.

*Postupak:* Ispitivanja su rađena na po sedam koncentracija svakog uzorka u tri ponavljanja radnih proba i jednom korekcijom. Radne probe sadrže: 75 µL SNP, 5 µL etarskog ulja i 75 µL pufera. Korekcije sadrže: 75 µL pufera, 5 µL etarskog ulja i 75 µL pufera. Kontrole sadrže: 75 µL SNP, 5 µL etanola i 75 µL pufera. Sam eksperiment se postavlja u zamračenoj prostoriji, a inkubira se na konstantom svetlu u toku 60 minuta. Po isteku perioda inkubacije dodaje se po 150 µL Grissovog reagensa u sve probe. Apsorbancija se meri u čitaču mikrotitar ploča, na 546 nm. *Faktor razblaženja u well-u:* 5/305.

#### 4.2.1.2.c Kapacitet neutralizacije hidroksil radikala

*Princip:* U cilju određivanja kapaciteta neutralizacije OH<sup>·</sup> radikala, primenjena je modifikovana metoda po Gutteridge-u (1987). U Fentonovoj reakciji generisani hidroksil radikali vode razgradnji 2-deoksi-d-riboze na malonildialdehid (MDA) i hidroksisirćentu kiselinu u prisustvu kiseonika. MDA sa dva molekula tiobarbiturne kiseline (TBA) daje ružičasto obojeni kompleks.



a) Reakcija nastajanja malonilaldeida *in situ*, b) Reakcija formiranja ružičasto obojenog kompleksa po dodatku tiobarbiturne kiseline

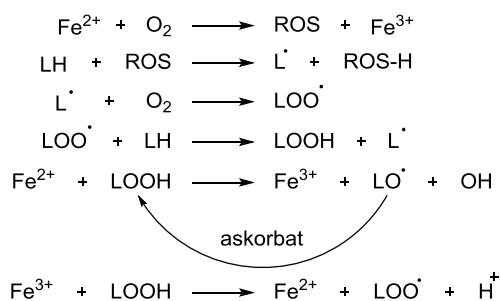
*Reagensi:* Rastvor vodonik-peroksida, 0,0147%: 49 µL 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u 100 mL destilovane vode (n.s.). Rastvor gvožđe-(II) sulfata, 10,0 mM: 0,1390 g FeSO<sub>4</sub> × 7H<sub>2</sub>O u 50,0 mL destilovane vode (n.s.). Fosfatni pufer, pH=7,4; 0,067 M: 1,7506 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> i 9,6334 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> × 2H<sub>2</sub>O u 1000,0 mL destilovane vode (n.s.). Rastvor 2-deoksi-D-riboze, 0,05 M: 0,1677 g C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> u 25,0 mL fosfatnog pufera (pH 7,4; 0,067 M). Rastvor kompleksna III: 1,86 g EDTA u 50,0 mL destilovane vode. TBA reagens: 3,0 g tiobarbiturna kiselina (thiobarbituric acid, TBA), 120,0 g trihlorsircetna kiselina (trichloracetic acid, TCA) i 10,4 mL perchlorne kiseline (HClO<sub>4</sub>) u 800,0 mL destilovane vode. Zbog slabije rastvorljivosti TBA, potrebno je kod pripreme reagensa, staviti smešu u ultrazvučno kupatilo, ili na magnetnu mešalicu.

*Uzorci:* Pripremljena je serija dvostrukih razblaženja ispitivanih etarskih ulja u etanolu, u intervalu početnih koncentracija 7,8-500 µL/mL. Za svaku koncentraciju etarskog ulja su pripremljene po tri probe i jedna korekcija.

*Postupak:* Radne probe sadrže: 50 µL 2-deoksi-D-riboze, 10 µL etarskog ulja, 50 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 50 µL Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1,3 mL pufera. Korekcije sadrže: 50 µL pufera, 10 µL etarskog ulja, 50 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 50 µL Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1,3 mL pufera. Kontrole sadrže: 50 µL 2-deoksi-D-riboze, 10 µL etanola, 50 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 50 µL Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1,3 mL pufera. Po isteku 60 minuta inkubacije na 37 °C, u sve probe dodato je 100 µL EDTA i 1 mL TBA reagensa. Nakon toga se sve epruvete zagrevaju na 100 °C u toku 10 min. Nakon hlađenja po 0,2 mL rastvora je preneto u mikrotitar ploču, a apsorbancija je merena na 532 nm. *Faktor razblaženja u epruveti:* 10/2560.

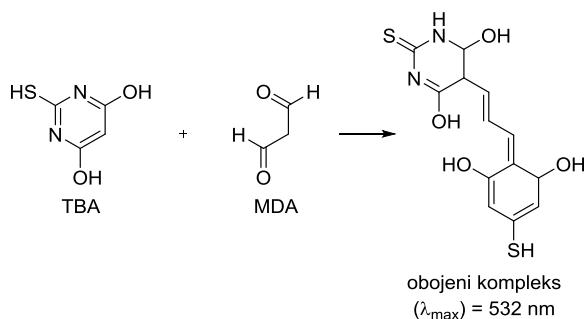
#### 4.2.1.2.d Inhibicija lipidne peroksidacije

*Princip:* Određivanje sposobnosti ispitivanih ekstrakata da inhibiraju lipidnu peroksidaciju rađeno je TBA metodom (Miller i Aust, 1989). Polinezasičene masne kiseline izolovane iz semena lana, ekstrakcijom po Soxhlet-u, korišćene su kao supstrat za lipidnu peroksidaciju izazvanu Fe<sup>2+</sup> jonima u sinergizmu sa askorbatom. Poznato je da Fe<sup>2+</sup> joni mogu reagovati sa kiseonikom iz vazduha i pri tome generisati reaktivne kiseonične vrste (ROS), kao što je superoksid anjon radikal (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>) za koji se prepostavlja da je inicijator lančane radikalske reakcije lipidne peroksidacije. U sukcesivnim reakcijama nastaju različite forme reaktivnih čestica: lipidni radikal (L<sup>·</sup>), peroksil radikal (LOO<sup>·</sup>), lipidni hidroperoksid (LOOH) i dr, koji u reakciji sa jonima metala (Fe<sup>2+</sup> ili Cu<sup>2+</sup>) mogu da grade lipidne alkoksil radikale, malonilaldehid, 4-hidroksi-2-nonenal, 4-hidroksi-2-heksanal, akrolein itd.



### Lančane slobodno-radikalne reakcije u procesu lipidne peroksidacije

Jedan od krajnjih produkata lipidne peroksidacije, MDA, sa tiobarbiturnom kiselinom (TBA) gradi obojeni kompleks



### Reakcija formiranja ružičasto obojenog kompleksa po dodatku tiobarbiturne kiseline

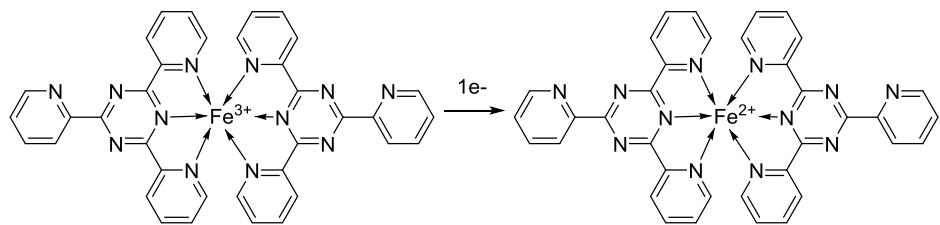
*Reagensi:* Fosfatni pufer, pH=7,4; 0,067 M: 1,7506 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> i 9,6334 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O u 1000,0 mL destilovane vode (n.s.). Emulzija masnih kiselina iz lanenog ulja u vodi, 0,035%: 35 μL lanenog ulja i 250 μL Tween-80 u 100,0 mL fosfatnog pufera pH=7,4, 0,067M držati na ultrazvučnom kupatilu 90 min. Rastvor gvožđe-(II)-sulfata, 4,58 mM: 0,0127 g FeSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O u 10 mL destilovane vode. Osnovni rastvor askorbinske kiseline, 3,49 M: 0,0615 g C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> rastvoreno u 100 mL destilovane vode (n.s.). Radni rastvor askorbinske kiseline, 0,087 mM: 10 μL osnovnog rastvora u pomešano sa 390 μL destilovane vode. Rastvor dinatrijumove soli etilen-diamin-tetrasirćetne kiseline (EDTA), 3,72%: 1,86 g Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>EDTA u 50,0 mL destilovane vode. TBA reagens: 3,0 g tiobarbiturne kiseline (TBA), 120,0 g trihlorsirćetne kiseline (TCA) i 10,4 mL perchlorne kiseline (HClO<sub>4</sub>) u 800,0 mL destilovane vode.

*Uzorci:* Pripremljena je serija dvostrukih razblaženja ispitivanih etarskih ulja u etanolu, u intervalu početnih koncentracija 0,16-10  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Za svaku koncentraciju etarskog ulja su pripremljene po tri probe i jedna korekcija.

*Postupak:* Radne probe sadrže: 1,5 mL emulzije masnih kiselina, 10  $\mu\text{L}$  etarskog ulja, 10  $\mu\text{L}$   $\text{Fe}_2\text{SO}_4$ , 10  $\mu\text{L}$  askorbata. Korekcije sadrže: 1,5 mL pufera, 10  $\mu\text{L}$  etarskog ulja, 10  $\mu\text{L}$   $\text{Fe}_2\text{SO}_4$ , 10  $\mu\text{L}$  askorbata. Kontrole sadrže: 1,5 mL emulzije masnih kiselina, 10  $\mu\text{L}$  etanola, 10  $\mu\text{L}$   $\text{Fe}_2\text{SO}_4$ , 10  $\mu\text{L}$  askorbata. Slepa proba: 1,5 mL pufera, 10  $\mu\text{L}$  etanola, 10  $\mu\text{L}$   $\text{Fe}_2\text{SO}_4$ , 10  $\mu\text{L}$  askorbata. Po isteku 60 minuta inkubacije na 37 °C, u sve probe dodato je 100  $\mu\text{L}$  EDTA i 1 mL TBA reagensa. Nakon toga se prokuvaju sve epruvete u toku 15 min, centrifugaraju 10 minuta na 3500 o/min, a apsorbancije mere na 532 nm. *Faktor razblaženja u epruveti:* 10/2560.

#### 4.2.1.2.e FRAP test

*Princip:* FRAP metoda (*Ferric Reducing Ability of Plasma*, alternativno *Feric ion Reducing Antioxidant Power*) originalno je razvijena za potrebe određivanja sadržaja redukujućih materija u krvnoj plazmi, ali je našla primenu i u ispitivanju antioksidantnog potencijala biljnih ekstrakata (Benzie i sar., 1996) i etarskih ulja. Zasniva se na redukciji  $[\text{Fe}^{3+}-2,4,6\text{-tris(2-piridil)-s-triazin}]$  kompleksa do intenzivno plavo obojenog  $[\text{Fe}^{2+}\text{-TPTZ}]$  kompleksa u kiseloj sredini. Reakcija nije specifična i bilo koji sistem sa redoks potencijalom negativnijim od para  $\text{Fe}^{3+}\text{-TPTZ}/\text{Fe}^{2+}\text{-TPTZ}$  vodi do redukcije:



*Reakcija redukcije  $[\text{Fe}^{3+}\text{-TPTZ}]$  kompleksa*

*Reagensi:* (1) Acetatni pufer, pH=3,6: 155,0 mg  $\text{CH}_3\text{COONa} \times 3\text{H}_2\text{O}$  i 800  $\mu\text{l}$   $\text{ccCH}_3\text{COOH}$  u 50 ml destilovane vode (n.s.). (2) 2,4,5-tripiridil-s-triazin (TPTZ), 10 mM rastvor u 40 mM HCl: 15,6 mg TPTZ u 5 ml 40 mM HCl (20  $\mu\text{l}$  36% HCl u 4,980 g  $\text{dH}_2\text{O}$ ). (3) Gvožđe (III)-

hlorid, 20 mM: 27,0 mg FeCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O u 5 ml destilovane vode. FRAP reagens se dobija mešanjem pripremljenih rastvora (1), (2) i (3) u odnosu 50:5:5.

*Kalibraciona kriva:* Askorbinska kiselina, 1,024 mg/mL: 0,1024 g askorbinske kiseline u 100 mL destilovane vode (n.s.).

*Uzorci:* Početne koncentracije etarskog ulja su 10 µL/mL, 5 µL/mL i 2,5 µL/mL (etarskog ulje/etanol)

*Postupak:* Ispitivanja su rađena na po tri koncentracije svakog uzorka u tri ponavljanja radnih proba i jednom korekcijom etarskog ulja svake koncentracije. Radne probe sadrže: 290 µL Frap reagensa i 10 µL etarskog ulja. Korekcije sadrže: 290 µL vode i 10 µL etarskog ulja. Slepa proba sadrži: 290 µL Frap reagensa i 10 µL etanola. Po isteku 6 minuta, apsorbancije su izmerene na talasnoj dužini od 593 nm na čitaču mikrotitar ploča (Multiskan reader).

*Faktor razblaženja u well-u:* 10/300.

#### **4.2.2. Mikrobiološke analize**

Na šest serovarijeteta *Salmonella* spp. i koktel serovarijeteta odabranog za kontaminaciju mesa određena je minimalna inhibitorna koncentracija etarskih ulja i aktivnih principa. U eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa praćen je rast i razmnožavanje *Salmonella* spp., dok je u uzorcima koji nisu kontaminirani serovarijetetima *Salmonella* spp.. praćen broj bakterija iz familije *Enterobacteriaceae*, ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija, broj psihrotrofnih bakterija i broj bakterija mlečne kiseline. Mikrobiološke analize na uzorcima mlevenog mesa rađene su nultog, trećeg, šestog, devetog, dvanaestog i petnaestog dana skladištenja. Rezultati broja praćenih bakterija iskazani su kao log CFU(*Colony Forming Unit*) /g mesa.

##### **4.2.2.1. Određivanje minimalne inhibitorne koncentracije**

Za ispitivanje osetljivosti bakterijskih sojeva na etarska ulja korišćena je metoda mikrodilucije u mikrotitrationim pločama (CLSI 2009, CLSI 1999). Mikrodilucionu metodu je rađena u sterilnim mikrotitar pločama sa U dnom, koje sadrže 96 bunarčića raspoređenih u 12 kolona, obeleženim brojevima od 1 do 12 i 8 redova, obeleženim velikim latiničnim slovima od A do H (Spektar, Čačak, Serbia). Mikrotitarske ploče su punjene sa po 100 µL Mueller-Hinton bujona (CAMHB, Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA). Etarska

ulja i aktivne komponente rastvorene su u DMSO (Serva, Heidelberg, Germany). U ploči, vršena je serijska dilucija višekanalnom automatskom pipetom i pravljena su dupla razređenja početnih rastvora etarskih ulja i aktivnih komponenata, čije su koncentracije bile u opsegu od 2560 µg/ml do 1,25 µg/ml. Od prekonoćnih kultura ispitivanih sojeva mikroorganizama koji su uzgajani na Miler Hinton agaru, napravljene su suspenzije bakterija u sterilnom fiziološkom rastvoru. Gustina inokuluma je podešena tako da odgovaraju turbiditetu 0,5 McFarland-a, koja odgovara koncentraciji bakterija  $1\text{-}2 \times 10^8$  CFU/ml, nakon čega je razblažen 10 puta ( $1\text{-}2 \times 10^7$  CFU/mL) u sterilnom fiziološkom ratvoru. Po 5µl ove suspenzije inokulisano je u 0,1 ml CAMHB u koji su već aplikovana etarska ulja i aktivni principi, do dobijanja finalne koncentracije bakterijskih ćelija od  $1\text{-}2 \times 10^5$  CFU/ml. Kao pozitvna kontrola korišćen je komercijalni antibiotik amikacin (Sigma-Aldrich, Sent Louis, USA) u koncentracijama od 64 do 0,03 µg/ml. Kao negativna kontrola zasejane su ploče bez etarskih ulja i aktivnih komponenti. Nakon inokulacije bakterijskih sojeva mikrotitracione ploče su inkubirane na 37 °C tokom 24 sata u aerobnim uslovima, posle čega su očitavani rezultati. Minimalna inhibitorna koncentracija je određena kao najniža koncentracija prilikom koje antimikrobna supstanca sprečava vidljiv rast mikroorganizama (CLSI, 2006).

#### **4.2.2.2. Određivanje broja *Salmonella* spp. u inokulisanim uzorcima**

Broj *Salmonella* spp.. određivan je prema preporuci Pathania i sar. (2010). Za određivanje broja *Salmonella* spp.. korišćen je Xylose Lysine Tergitol 4 agar (XLT4) (Oxoid, UK).

Princip metode: Od svakog uzorka odmereno je 10g mesa i sterilnom pincetom stavljeno u Stomacher kesu, a potom naliveno sa 90 ml puferovane peptonske vode (Buffered Peptone Water-BPW) (Oxoid, UK) i homogenizovano 30 sekundi u Stomacher- u. Na taj način je pripremljeno osnovno razređenje. Nakon homogenizacije pripremljena su serijska decimalna razređenja. Iz odgovarajućih razređenja, preneto je 0,1 ml na površinu XLT<sub>4</sub> agara i razmazano sterilnim etalerom. Zasejane podloge inkubirane su 24 sata pri temperaturi od 37 °C. Nakon 24 sata prebrojane su izrasle karakteristične crne kolonije *Salmonella* spp. Broj *Salmonella* spp. dobijen je množenjem broja izraslih kolonija *Salmonella* spp. sa veličinom razređenja.

#### **4.2.2.3. Određivanje ukupnog broja enterobakterija**

Određivanje ukupnog broja enterobakterija rađeno je u skladu sa SRPS ISO 21528- 2: 2009, Mikrobiologija hrane i hrane za životinje- Horizontalna metoda za otkrivanje i određivanje broja *Enterobacteriaceae* - Deo 2: Metoda brojanja kolonija.

Princip metode: Od svakog uzorka odmereno je 10g mesa i sterilnom pincetom stavljen u Stomacher kesu, a potom naliveno sa 90 ml puferovane peptonske vode (Buffered Peptone Water-BPW) (Oxoid, UK) i homogenizovano 30 sekundi u Stomacher-u i na taj način je pripremljeno osnovno razređenje. U sterilne Petri ploče prenet je 1 ml tečnosti iz odgovarajućih razređenja, a zatim je naliveno 10 ml prvog sloja Violet Red Bile Glucose agara (VRBG) (LAB M, UK). Drugi sloj VRBG agara temperiranog na 44 °C u kolicini od 15 ml naliven je nakon hlađenja i stezanja prvog sloja. Dodavanjem ovog sloja sprečeno je prerastanje i stvaraju se poluanaerobni uslovi. Ploče sa okrenutim poklopcem nadole su inkubirana 24 sata pri 37 °C, nakon čega su prebrojane su karakteristične kolonije, a zatim su urađeni potvrđni testovi (fermentacija glukoze i oksidaza test). Na osnovu prebrojanih karakterističnih kolonija izračunat je broj enterobakterija u 1 g mlevenog mesa.

#### **4.2.2.4. Određivanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija**

Određivanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija u uzorcima mlevenog mesa rađeno je prema SRPS EN ISO 4833:2008, Mikrobiologija hrane i hrane za životinje- Horizontalna metoda za određivanje broja mikroorganizama – Tehnika brojanja kolonija na 30 °C.

Princip metode: Od svakog uzorka odmereno je 10g mlevenog mesa i sterilnom pincetom stavljen u Stomacher kesu, a potom naliveno sa 90 ml puferovane peptonske vode (Buffered Peptone Water-BPW) (Oxoid, UK) i homogenizovano 30 sekundi u Stomacher- u. Na taj način je pripremljeno osnovno razređenje iz koga su pripremljena serijska decimalna razredjenja. Iz odgovarajućih razređenja, po 1 ml je prenet u sterilne Petri ploče, nakon čega je naliveno 12-15 ml Plate Count Agar-a (PCA) (LAB M, UK). Posle inkubacije zasejanih podloga tokom 72 sata pri temperaturi od 30 °C. Kolonije su brojane na pločama na kojima je izraslo između 15 i 300 kolonija i izračunat je ukupan broj bakterija u 1g mlevenog mesa.

#### **4.2.2.5. Određivanje broja bakterija mlečne kiseline**

Određivanje broja bakterija mlečne kiseline rađeno je u skladu sa SRPS ISO 15214:1998, Mikrobiologija hrane i hrane za životinje- Horizontalna metoda za određivanje broja mezofilnih bakterija mlečne kiseline - Tehnika brojanja kolonija na 30 °C.

Princip metode: Od svakog uzorka odmereno je 10g mesa, sterilnom pincetom stavljen u Stomacher kesu, a potom naliveno sa 90 ml puferovane peptonske vode (Buffered Peptone Water-BPW) (Oxoid, UK) i homogenizovano 30 sekundi u Stomacher- u. Na taj način je pripremljeno osnovno razređenje iz koga su pripremljena serijska decimalna razredenja. Iz svakog razblaženja, po 0,1 ml tečnosti je preneto na površinu MRS agaru (Oxoid, UK) i kružnim pokretima razmazan sterilnim etalerom. Posle toga zasejana podloga je prelivena sa 10 ml rashladene (45 °C) podloge za ukupan broj bakterija (Plate Count Agar) u cilju stvaranja mikraerofilnih, optimalnih uslova za rast laktobacila. Podloga je inkubirana na 30 °C tokom 72 sata, nakon čega su brojane izrasle kolonije. Dobijeni broj kolonija množen je sa veličinom razređenja, podeljen sa brojem grama i iskazan kao log cfu u 1g mlevenog mesa.

### **4.2.3. Hemijske i fizičko- hemijske analize**

#### **4.2.3.1. Određivanje osnovnog hemijskog sastava mesa**

Osnovni hemijski sastav mlevenog mesa je ispitivan nultog dana eksperimenta.

##### **4.2.3.1.a Određivanje sadržaja vode**

Određivanje sadržaja vode rađeno je u skladu sa SRPS ISO 1442:1998, Meso i proizvodi od mesa - Određivanje sadržaja vlage.

Princip metode: Utorak se homogenizuje (meša) sa peskom i suši do konstantne mase pri temperaturi od  $103\pm2$  °C.

##### **4.2.3.1.b Određivanje sadržaja pepela**

Određivanje sadržaja pepela rađeno je u skladu sa SRPS ISO 936:1999 , Meso i proizvodi od mesa - Određivanje sadržaja pepela (referentna metoda).

Princip metode: Uzorak se suši i sagoreva pri temperaturi od  $550\pm25$  °C i nakon hlađenja se određuje masa ostatka. Pri obračunu je vršena korekcija za kolicinu MGO koji se dodaje u uzorak pre početka sušenja i spaljivanja.

#### **4.2.3.1.c Određivanje sadržaja proteina**

Određivanje sadržaja proteina rađeno je u skladu sa SRPS ISO 937: 1992, Meso i proizvodi od mesa- Određivanje sadržaja azota (referentna metoda), metoda po Kjeldalu.

Princip metode: prema uputstvu proizvođača uređaja Digestor 1001 (Foss, Švedska) i Kjeltec 8400 Analyzer Unit (Foss, Švedska) uzorak se sa koncentrovanom sumpornom kiselinom zagreva uz korišcenje bakar-sulfata kao katalizatora, pri čemu organske materije uzorka oksiduju do ugljene kiseline, a azot koji se pri tome oslobađa u obliku amonijaka gradi sa sumpornom kiselinom amonijum- sulfat. Dejstvom baze na stvoreni amonijum- sulfat izdvaja se amonijak, nakon čega se vrši titracija kiselinom poznatog molariteta. Titracijom se određuje količina amonijaka i na kraju izračunava sadržaj azota u uzorku iz količine dobijenog amonijaka.

#### **4.2.3.1.d Određivanje sadržaja slobodne masti**

Određivanje sadržaja slobodne masti rađeno je prema SRPS ISO 1444: 1998, Meso i proizvodi od mesa - Određivanje sadržaja slobodne masti.

Princip metode: Vrši se ekstrakcija masti petroletrom po Soxhlet- u, a zatim se rastvarač uklanja destilacijom, posle čega se sušenje vrši pri temperaturi od  $105\pm1$  °C do konstantne mase i merenje ekstrakta.

#### **4.2.3.2. Određivanje sadržaja ukupnog isparljivog azota (TVB-N)**

Određivanje sadržaja ukupnog isparljivog azota u uzorcima mlevenog mesa rađeno je nultog, trećeg, šestog, devetog, dvanaestog i petnaestog dana skladištenja.

Za određivanje sadržaja ukupnog isparljivog azota korišćena je reakcija titracije sa hidrohlornom kiselinom uz prisustvo 3% borne kiseline i indikatora metil crvenog i metil plavog (Goulash i Kontominas, 2005), Food Chemistry, 93, 3, 511-520.

Princip: isparljiva bazna azotna jedinjenja u uzorku ektrahovana su 0,6M hidrohlornom kiselinom. Ekstrakt je nakon alkalizacije destilovan vodenom parom, a koncentracija isparljivih baznih komponenti određivana je titracijom sa 3% bornom kiselinom kiselinom.

Isparljiva bazna azotna jedinjenja su ekstrahovana iz uzorka mesa upotrebom 0,6 molarne perhlorne kiseline. Posle alkalinizacije, ekstrakt je destilovan vodenom parom. Isparljive baze koje se nalaze u dobijenom rastvoru posle destilacije određene su titracijom sa standardnim

rastvorom hlorovodonicne kiseline, a koncentracija ukupno isparljivog azota izražavana je u mg/100g uzorka.

#### **4.2.3.3. Određivanje kiselinskog broja**

Kiselinski broj je određen prema metodi SRPS EN ISO 660/2011

Kiselinski broj - broj miligrama kalijum- hidroksida potreban za neutralizaciju slobodnih masnih kiselina prisutnih u 1g masti, određen je prema postupku koji je utvrđen u ovom međunarodnom standardu.

Kiselinski broj,  $W_{av}$ , izražen kao maseni udeo, jednak je

$$W_{AV} = \frac{56,1 \bullet c \bullet V}{m}$$

gde je:

c- tačna koncentracija upotrebljenog standardnog volumetriskog rastvora natrijum-hidroksida ili kalijum hidroksida, u molovima po litru

V - zapremina utrošenog standardnog volumetrijskog rastvora natrijum-hidroksida ili kalijum hidroksida

m - masa dela uzorka za ispitivanje, u gramima odgovarajuću količinu uzorka i

*Procedura:* Metoda sa hladnim rastvorom uz upotrebu indikatora (Referentna metoda)

U zavisnosti od očekivanog opsega vrednosti kiselinskog broja odabrane su odgovarajuće količine uzorka i odgovarajuće koncentracije baze. U odmerenu količinu uzorka dodato je 50-100ml neutralne mešavine rastvarača etanola i dietil etra, bez peroksiда. Nakon dodavanja indikatora titracija je izvršena pri konstantnom vrtlogu, korišćenjem standardnog rastvora kalijum hidroksida (natrijum- hidroksida). Završna tačka titracije postignuta je kada je dodatkom jedne kapi baze izazivana blaga ili jasna promena boje u trajanju od najmanje 15s.

**NAPOMENA\*:** Za potrebe određivanja kiselinskog broja vrši se prethodna ekstrakcija masti. Odgovarajuća količina uzorka ispitivanog mesa se prelije sa odgovarajućom količinom hloroformu uz dodatak natrijum-sulfata. Uzorak se dobro izmeša, a zatim stoji u frižideru nekoliko časova. Nakon toga, sadržaj se profiltruje i za analizu se uzima odgovarajuća količina filtrata.

#### **4.2.3.4. Određivanje TBARS vrednosti**

TBARS-vrednost (Thiobarbituric Acid Reactive Substances, test sa tiobarbiturnom kiselinom kojom se određuje sadržaj MAL – malondialdehida) određena je prema kombinovanoj metodi Tarladgis i sar. (1964) i Holland (1971).

*Princip:* Izdvajanje malonaldehida destilacijom vodenom parom, razvijanje crvene boje dodatkom tiobarbiturne kiseline i očitavanje njenog intenziteta na spektrofotometru, na talasnoj dužini 532nm.

Izražavanje rezultata: sadržaj malonaldehida (MAL), izražen kao mg/kg uzorka za ispitivanje, izračunat je prema formuli:

$$\text{MAL (mg/kg)} = \frac{Cx100}{m} \quad \text{gde je}$$

C - koncentracija MAL u rastvoru tiobarbiturne kiseline, očitana sa kalibracione krive, u mikrogramima

m - masa dela uzorka za ispitivanje , u gramima

#### **4.2.3.5. Određivanje pH vrednosti**

Merenje pH vrednosti nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa rađeno je nultog, trećeg, šestog, devetog, dvanaestog i petnaestog dana skladištenja u skladu sa SRPS ISO 2917:2003, Meso i proizvodi od mesa, merenje pH - referentna metoda. Merenje je obavljeno direktno, ubodnom sondom pH- metra "Testo 205" (Lenzkirch, Nemačka) prema uputstvu proizvođača. Pre i tokom upotrebe pH-metar je kalibriran standardnim fosfatnim puferima (pH pufera za kalibraciju je bio 7,00 i 4,00 na 20 °C).

#### **4.2.3.6. Praćenje sastava atmosfere unutar pakovanja mlevenog mesa**

Merenje sastava gasnih smeša u pakovanjima svežeg mesa vršeno je uređajem za ispitivanje gasnog sastava, OXYBABY, proizvodnje WITT GASETECHNIK – Nemačka. Opseg merenja instrumenta je 0-100% zapreminskih (vol) za kiseonik ( $O_2$ ) i ugljen dioksid ( $CO_2$ ). Sadržaj azota je računat kao razlika do 100% kada se oduzmu izmerene vrednosti kiseonika i ugljen-dioksida. Tačnost uređaja je 0,1% za kiseonik i ugljen-dioksid. Princip merenja uređaja je zasnovan na elektrohemiskom principu. Minimalna količina gasa za funkcionisanje instrumenta iznosi 4 ml.

Merenje je obavljeno korišćenjem originalne podloške radi izbegevanja ulaska atmosferskog vazduha. Pre svakog merenja uređaj je kalibriran prema uputstvu proizvođača, neposredno pre početka merenja, u algoritmu „nulta kalibracija“ u struji 100% azota i 100% ugljen dioksida, bez tragova kiseonika u sebi. Za kalibraciju su korišteni analitički gasovi, visokog stepena čistoće, proizvodnje MESSER – TEHNOGAS, Beograd – Srbija.

#### **4.2.4. Senzorna ocena uzoraka mlevenog mesa**

Senzornim ispitivanjem ocenjivani su samo nekontaminirani uzorci mlevenog mesa nultog, trećeg, šestog, devetog, dvanaestog i petnaestog dana skladištenja pri temperaturi od  $4\pm1$  °C. U senzornoj oceni učestvovalo je deset obučenih ocenjivača. Uzorci su ispitani u prostorijama koje su projektovane prema zahtevima standarda SRPS EN ISO 8589:2012. Senzorna ocena odabranih osobina mlevenog mesa obavljena je pomoću ocenjivačkog lista koji je uključivao ocenu mirisa i boje. Na ocenjivačkom listiću (Shema - Nacrtaj.) za svaku osobinu data je skala sa ocenama od 1 do 10, pri čemu ocena 10 označava maksimalan intenzitet/prihvatljivost, a ocena jedan označava najmanju prihvatljivost, dok je ocena pet i iznad pet smatrana prihvatljivom.

#### **4.2.5. Statistička analiza podataka**

Sva ispitivanja uključivala su dovoljan broj ponavljanja za statističku obradu podataka. Kao osnovne statističke metode korišćeni su deskriptivni statistički parametri. Deskriptivni statistički parametri, aritmetička sredina, standardna devijacija, standardna greška, minimalna vrednost, maksimalna vrednost i koeficijent varijacije, omogućavaju opisivanje eksperimentalnih rezultata i njihovo tumačenje. Za testiranje i utvrđivanje statistički značajnih razlika između ispitivanih grupa korišćena su dva testa. Za ispitivanje značajnosti razlika između srednjih vrednosti dve ispitivane grupe je korišćen t-test. Za ispitivanje signifikantnih razlika između tri i više posmatranih tretmana korišćen je grupni test, ANOVA, a zatim pojedinačnim Tukey testom za ispitivanje statistički značajne razlike između tretmana. Signifikantnost razlika je utvrđena na nivoima značajnosti od 5% i 1%. Svi dobijeni rezultati su prikazani tabelarno i grafički. Statistička analiza dobijenih rezultata je urađena u statističkom paketu PrismaPad 5.00 (GraphPad Software, San Diego, California USA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)).

## **5. REZULTATI ISPITIVANJA**

U skladu sa postavljenim ciljem i zadacima, rezultati ispitivanja podeljeni su u 10 celina. Prva celina odnosi se na hemijski sastav etarskih ulja korišćenih u ogledu. Druga na antibakterijske osobine etarskih ulja. Dok se treća odnosi na određivanje antioksidantnog potencijala etarskih ulja. Četvrti deo sadrži podatke o hemijskom sastavu mesa korišćenog u ogledu. U petoj celini izloženi su rezultati delovanja etarskih ulja i različitih načina pakovanja na mikrobiološki status melvenog nekontaminiranog mesa i mesa eksperimentalno kontaminiranog *Salmonella* spp. Šesta celina sadrži podatke o promeni pH vrednosti skladištenih uzoraka mesa, a sedma o promeni sadržaja ukupnog isparljivog azota. Osma celina odnosi se na određivanje oksidativne stabilnosti uzoraka mlevenog svinjskog mesa. Deveta celina prati promene sastava atmosfere unutar pakovanja mlevenog mesa u modifikovanoj atmosferi. Dok su u poslednjoj celini prikazane promene senzornih osobina (miris i boja) uzoraka mlevenog svinjskog mesa tokom skladištenja.

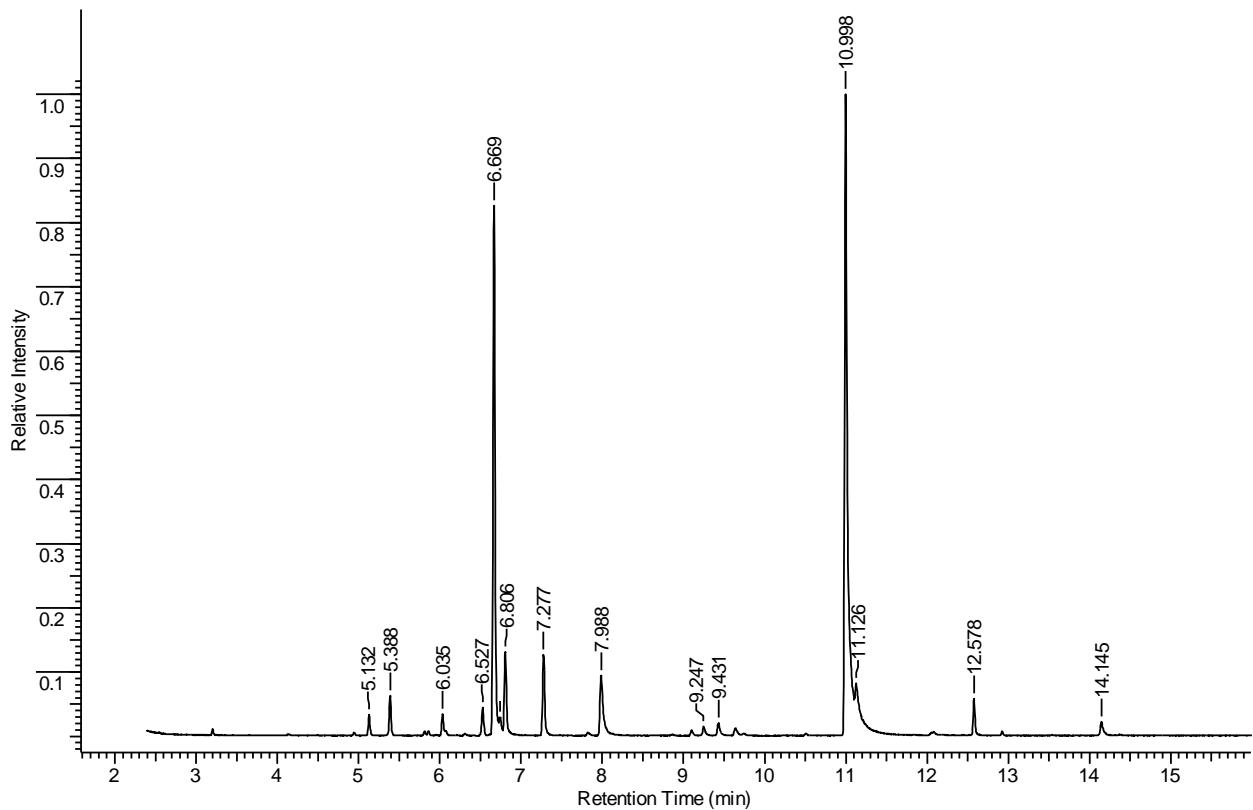
### **5.1. Hemijski sastav etarskih ulja**

#### **5.1.1. Hemijski sastav etarskog ulja timijana**

Hemijski sastav etarskog ulja origana prikazan je u tabeli 1. Hemijskom karakterizacijom etarskog ulja lista origana primenom gasne hromatografije sa masenim detektorom utvrđeno je prisustvo ukupno 16 različitih komponenti koje čine 100% ukupnog sastava etarskog ulja. Dobijeni rezultati pokazuju da najveći procenat etarskog ulja timijana čine oksidovani monoterpeni, od kojih timol čini dominantnu komponentu odnosno 50,48% ukupnog sastava etarskog ulja, zatim 1,8-cineol (4,35%),  $\gamma$ -terpinen (4,14%), linalol (4,69%), karvakrol (1,18%). Dok su borneol, 4-terpineol i  $\alpha$ -terpineol zastupljeni u nižim koncentracijama. *p*-cimen je najzastupljeniji monoterpenski ugljovodonik (24,79%) i druga po zastupljenosti komponenta etarskog ulja timijana. Ostali monoterpenski ugljovodonici su  $\alpha$ -pinen, kamfene,  $\beta$ -mircen,  $\alpha$ -terpinen i limonen. Trans  $\beta$ -kariofilen je jedini zastupljeni seskviterpenski ugljovodonik, a kariofilen-oksid jedini oksidovani seskviterpen u ispitivanom etarskom ulju timijana.

**Tabela 1.** Hemski sastav etarskog ulja timijana

<b>t<sub>R</sub> [min]</b>	<b>LRI</b>	<b>ID</b>	<b>Area %</b>
5,132	937	α-Pinen	0,88
5,390	953	Kamfen	1,77
6,036	992	β-Mircen	1,16
6,529	1020	α-Terpinen	1,32
6,670	1028	p-Cimen	24,79
6,743	1032	Limonen	1,04
6,807	1036	1,8-Cineol	4,35
7,279	1062	γ-Terpinen	4,14
7,988	1102	Linalol	4,69
9,249	1175	Borneol	0,55
9,432	1185	4-Terpineol	0,74
9,641	1198	α-Terpineol	0,47
10,998	1344	Timol	50,48
11,129	1350	Karvakrol	1,18
12,579	1438	trans-β-kariofilen	1,51
14,148	1610	Kariofilen oksid	0,93



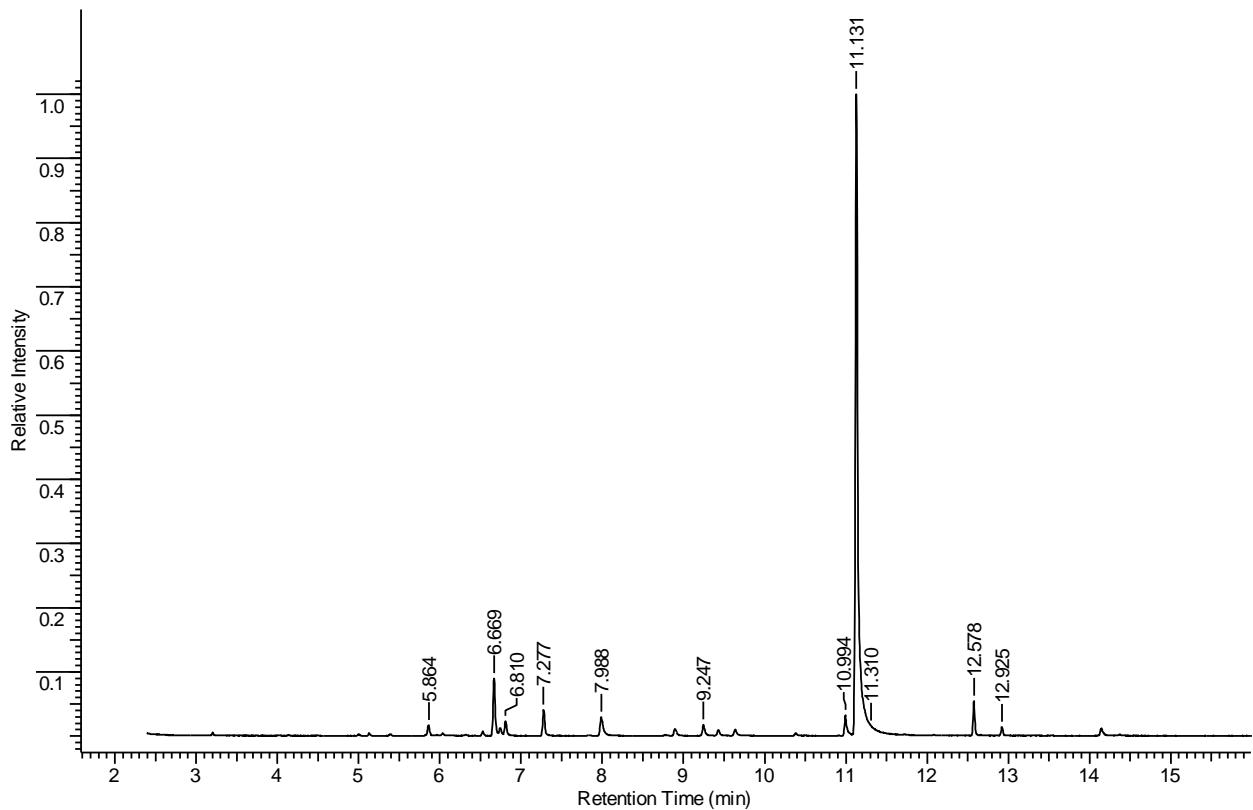
**Slika 1.** GC-MS hromatogram etarskog ulja timijana

### **5.1.2. Hemijski sastav etarskog ulja origana**

Hemijski sastav etarskog ulja origana prikazan je u tabeli 2. Hemijskom karakterizacijom etarskog ulja lista origana primenom gasne hromatografije sa masenim detektorom utvrđeno je prisustvo ukupno 16 različitih komponenti koje čine 100% ukupnog sastava etarskog ulja. Dobijeni rezultati pokazuju da je najzastupljenije jedinjenje karvakrol, koji čini 77,16% ukupnog sastava etarskog ulja. Nakon karvakrola, najveći udeo u hemijskom sastavu imaju *p*-cimen (5,14%), *trans*- $\beta$ -kariofilen (2,45%), linalol (2,44%),  $\gamma$ -terpinen (2,35) i timol (2,11%). Dok je zastupljenost ostalih hemijskih jedinjenja ispod 2%. Komponente etarskog ulja origana su grupisane u četiri grupe: monoterpeni ugljovodonici, oksidovani monoterpeni. Seskviterpenski ugljovodonici i oksidovani seskviterpeni. Oksidovani monoterpena činili su najveći deo hemijskog sastava etarskog ulja origana. Najzastupljeniji oksidovani monoterpen je bio karvakrol, a nakon njega linalol,  $\gamma$ -terpinen. Timol, 1,8-cineol, borneol, kamfor,  $\alpha$ -terpineol i 4-terpineol. Monoterpeni ugljovodonik prisutan u najvišoj koncentraciji bio je *p*-cimen. Dok su  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen i limonen bili zastupljeni u malim količinama. Seskviterpenski ugljovodonici detektovani u ispitivanom etarskom ulju bili su *trans*- $\beta$ -kariofilen i  $\alpha$ -humulen, a jedini oksidovani seskviterpen kariofilen-oksid.

**Tabela 2.** Hemski sastav etarskog ulja origana

$t_R$ [min]	LRI*	Jedinjenje	Površina %
5,863	981	$\beta$ -Pinen	0,93
6,529	1020	$\alpha$ -Terpinen	0,35
6,670	1028	<i>p</i> -Cimene	5,14
6,744	1032	Limonen	0,83
6,810	1036	1,8-Cineol	1,42
7,280	1062	$\gamma$ -Terpinen	2,35
7,989	1102	Linalol	2,44
8,897	1154	Kamfor	0,77
9,247	1175	Borneol	1,08
9,430	1185	4-Terpineol	0,62
9,641	1198	$\alpha$ -Terpineol	0,74
10,995	1343	Timol	2,11
11,132	1350	Karvakrol	77,16
12,578	1438	<i>trans</i> - $\beta$ -kariofilen	2,45
12,923	1473	$\alpha$ -Humulen	0,71
14,147	1610	Kariofilen oksid	0,90



**Slika 2.** GC-MS hromatogram etarskog ulja origana

## 5.2. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja

Rezultati ispitivanja antimikrobne aktivnosti etarskih ulja timijana i origana, kao i aktivnih komponenti (eugenol, timol, karvakrol i cinamaldehid) na šest serovarijeteta *Salmonella* spp., (*S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. Givae*), koja su izvedena određivanjem minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) agar dilucionom metodom prikazani su u tabeli 3. Etarska ulja timijana i origana, kao i aktivni principi su delovala na sve testirane sojeve u okviru ispitivanih koncentracija.

**Tabela 3.** Minimalne inhibitorne koncentracije ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) odabranih etarskih ulja i aktivnih principa na *Salmonella* spp. *in vitro*

	Antimikrobnna supstanca						
	Egarsko ulje			Aktivne komponente			Antibiotik
	Origano	Timijan	Eugenol	Timol	Karvakrol	Cinamaldehid	Amikacin
<i>S. Enteritidis</i>	320	320	640	160	320	320	0,125
<i>S. Typhimurium</i>	160	320	640	640	640	640	0,25
<i>S. Infantis</i>	320	640	1280	320	320	640	0,25
<i>S. Montevideo</i>	320	640	1280	320	320	640	0,25
<i>S. Senftenberg</i>	320	640	1280	320	320	640	1
<i>S. Givae</i>	320	640	1280	320	320	640	0,25
<i>S. spajk*</i>	320	640	1280	320	320	640	0,25

\* spajk je bio napravljen od serovarijeteta *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis* i *S. Montevideo*

Egarsko ulje origana je pokazalo dobru antimikrobnu aktivnost, inhibirajući rast testiranih *Salmonella* sa MIC vrednostima u opsegu 160-320  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Najosetljivija na dejstvo etarskog ulja origana bila je *Salmonella Typhimurium*. Dok su ostale ispitivane bakterije iz ovog roda bile jednakо osetljive. Etarsko ulje timijana pokazalo je nešto slabiju antimikrobnu aktivnost u odnosu na etarsko ulje origana. Za inhibiciju *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* bilo je neophodno 320  $\mu\text{g}/\text{ml}$  etarskog ulja timijana. Dok je za inhibiciju *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. Infantis*, *S. Givae* i spajka odabranih *Salmonella* bilo neophodno 640  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Od aktivnih principa najbolju antimikrobnu aktivnost pakazali su timol i karvakrol i za inhibiciju inhibiciju *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. Infantis*, *S. Givae* i spajka odabranih

*Salmonella* bilo neophodno 320 µg/ml. *S. Enteritidis* bila je osetljivija na dejstvo timola i bila je neophodno 160 µg/ml timola za inhibiciju ove bakterije. Dok je za isti efekat bilo neophodno 320 µg/ml karvakrola. Za inhibiciju *S. Typhimurium*, *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. Infantis*, *S. Givae* i spajak odabranih *Salmonella* spp. bilo je neophodno 640 µg/ml cinamaldehida. Dok je *S. Enteritidis* bila osetljivija na dejstvo ove aktivne komponente i za inhibiciju ovog serovarijeteta bilo je potrebno 320 µg/ml. Među ispitivanim ekstraktima i aktivnim principima, eugenol je ispoljio najslabiju antimikrobnu aktivnost. Najosetljivije na dejstvo eugenola bile su *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* i MIC vrednost za ove serovarijetete bila je 640 µg/ml. Dok je za inhibiciju ostalih ispitivanih *Salmonella* kao i spajka bilo potrebno 1280 µg/ml eugenola. *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. Infantis* i *S. Givae* pokazala su jednaku osetljivost prema ispitavanim etarskim uljima i aktivnim komponentama. Na dejstvo amikacina najosetljivija bila je *S. Enteritidis* za čiju inhibiciju je bilo potrebno 0,125 µg/ml ove antimikrobne supstance. *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Montevideo* i *S. Givae* pokazale su istu osetljivost prema inhibitornom dejstvu amikacina (0,25 µg/ml). Dok je najotporna bila *S. Senftenberg* za čiju inhibiciju je bilo potrebno 1 µg/ml amikacina.

### 5.3. Antoksidativna aktivnost etarskih ulja

Za analizu etarskih ulja timijana i origana korišćeni su testovi za određivanje antioksidantnog potencijala zasnovani na transferu elektrona (DPPH test i FRAP test). Sposobnosti „hvatanja“ slobodnih radikala (‘OH i NO<sup>·</sup> radikal) i inhibiciji lipidne peroksidacije (LP). Rezultati su navedenih analiza prikazani u tabeli 4. Tabele sa rezultatima spektrofotometrijskih merenja i grafici sa kojih su očitane IC<sub>50</sub> vrednosti prikazani su u Prilogu A.

**Tabela 4.** Rezultati testova za utvrđivanje antioksidativnog potencijala etarskog ulja timijana i origana

	IC <sub>50</sub> vrednosti			FRAP	
	Vrste slobodnih radikala			(mg eq	
	DPPH (µg/mL)	NO (µg/mL)	HO (µg/mL)	LP (nL/mL)	Askorbinske kiseline/mL)
Eatarsko ulje timijana	0,48±0,13	1,44±0,13	*	8,5±1,5	135,4±16,8
Eatarsko ulje origana	0,33±0,04	1,15±0,22	*	14,3±0,6	103,5±17,5

\* u ispitanim opsegu koncentracija nije postignuta IC<sub>50</sub> vrednost

Ispitivana etarska ulja postižu neutralizaciju 50% DPPH• radikala pri koncentracijama od 0,33 µL/mL (*O. vulgare*) do 0,48 µL/mL (*T. vulgaris*). Etarsko ulje origana pokazalo je bolju aktivnost i u pogledu „hvatanja“ NO• radikala i IC<sub>50</sub> vrednost ovog etarskog ulja iznosila je 1,15 µL/mL. Dok je za etarsko ulje timijana bila 1,44 µL/mL. Pri neutralizaciji •OH radikala etarska ulja timijana i origana nisu postigli IC<sub>50</sub> vrednost u ispitivanom opsegu koncentracija. Etarsko ulje timijana pokazalo je bolju aktivnost pri inhibiciji lipidne peroksidacije od etarskog ulja origana. Određene IC<sub>50</sub> vrednosti iznosi 8,5 nL/mL za etarsko ulje timijana i 14,3 nL/mL za etarsko ulje origana. Rezultati FRAP testa pokazuju da je aktivnost etarskog ulja timijana iznosi 135,4 mg eq askorbinske kiseline/mL i da je veća od aktivnosti etarskog ulja origana koje iznosi 103,5 mg eq askorbinske kiseline/mL.

#### **5.4. Hemijski sastav mesa**

Ispitivanjem hemijskog sastava utvrđeno je da je mleveno svinjsko meso korišćeno u prvom delu ogleda sadržalo 70,55% vode, 21,15% proteina, 7,15% masti i 1,09% pepela (Prilog B).

**Tabela 5.** Hemijski sastav mlevenog svinjskog mesa korišćenog u prvom delu ogleda

Sastav mesa (%)			
Voda	Proteini	Masti	Pepeo
70,55±0,72	21,15±0,65	7,15±0,04	1,09±0,05

Ispitivanjem hemijskog sastava utvrđeno je da je mleveno svinjsko meso korišćeno u drugom delu ogleda sadržalo 68,48% vode, 20,57% proteina, 10,31% masti i 1,05% pepela.

**Tabela 6.** Hemijski sastav mlevenog svinjskog mesa korišćenog u drugom delu ogleda

Sastav mesa (%)			
Voda	Proteini	Masti	Pepeo
68,48±1,48	20,57±1,02	10,31±0,69	1,05±0,05

## **5.5. Mikrobiološki status mlevenog mesa**

### **5.5.1. Broj *Salmonella* spp.**

U nekontaminiranim uzorcima mlevenog svinjskog mesa analiziranim na početku ogleda nije utvrđeno prisustvo *Salmonella* spp.

Rezultati promene broja *Salmonella* spp. u prvom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazani su u Tabeli 7. dok su promene u broju *Salmonella* spp. u uzavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentrcije etarskog ulja prkazane u Prilogu C (Tabele 1-8).

Na početku skladištenja u eksperimentalno eksperimentalno kontaminiranim uzorcima broj *Salmonella* spp. kretao se od  $6,16 \pm 0,03$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana do  $6,22 \pm 0,36$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u vakuum. Statistički značajne razlike uočene su već nultog dana ispitivanja između broja *Salmonella* spp. u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzorcima sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana pakovanim u vakuum ( $P < 0,01$ ) i modifikovanu atmosferu ( $P < 0,01$ ), kao u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana i uzorcima sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana pakovanim u vakuum ( $P < 0,05$ ) i modifikovanu atmosferu ( $P < 0,01$ ). Trećeg dana skladištenja broj *Salmonella* spp. opao je u svim uzorcima i bio najniži u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu ( $3,26 \pm 0,21$  log cfu/g) a najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana ( $6,02 \pm 0,07$  log cfu/g), a taj odnos se održao do kraja perioda skladištenja. Statistički značajne razlike u broju *Salmonella* spp. ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ) uočene su između svih uzoraka sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% odnosno 0,6% etarskog ulja timijana. Šestog dana ispitivanja statistički značajne razlike u broju *Salmonella* spp. ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ) uočene su između svih uzoraka sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana, uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih vakuum sa 0,3% etarskog ulja timijana, kao i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih vakuum sa 0,9% etarskog ulja. Devetog dana ispitivanja broj *Salmonella* spp. nastavio je da se smanjuje i kretao se od  $2,53 \pm 0,18$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa najvišom koncentracijom etarskog ulja timijana do  $5,29 \pm 0,02$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja. Između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu i uzoraka pakovanih u vakuum, uzoraka

pakovanih u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana, kao i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja nisu utvrđene statistički značajne razlike u broju *Salmonella* spp. Između uzoraka pakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana uočene su statistički značajne razlike u broju *Salmonella* spp. na nivou od  $P<0,05$ . Dok su u razlike u broju ove bakterije u ostalim uzorcima bile na nivou od  $P<0,01$ . Dvanestog dana ispitivanja broj *Salmonella* spp. se smanjio u odnosu na deveti dan i statistički značajne razlike uočene su između svih uzoraka sem između uzoraka pakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana, uzoraka pakovanih u modifikovanoj atmosferi sa 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom etarskog ulja u istoj koncentraciji, kao i uzorcima pakovanih u modifikovanu atmosferu sa 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja. Na kraju ispitivanja, odnosno petnaestog dana skladištenja broj bakterija se nije značajnije menjao u odnosu na dvanaesti dan. Najmanji broj *Salmonella* spp. utvrđen je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa 0,3 % etarskog ulja timijana ( $2,11\pm0,12$  log cfu/g) i uzorcima pakovanim u vakuum ( $2,32\pm0,21$  log cfu/g). Dok je najviši broj ovih bakterija bio u uzorcima pakovanim u vakuum ( $5,14\pm0,07$  log cfu/g) i uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana ( $4,88\pm0,13$  log cfu/g). Statistički značajne razlike u broju *Salmonella* spp. uočene su u svim uzorcima ( $P<0,05$  ili  $P<0,01$ ) sem u uzorcima pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3%, odnosno 0,6% etarskog ulja, kao i u uzorcima pakovanih u modifikovanu atmosferu 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom etarskog ulja u istoj koncentraciji, iako su numeričke vrednosti bile niže sa sve uzorke pakovane u modifikovanu atmosferu u odnosu na one pakovane u vakuum. U svim uzorcima zabeležen je statistički značajan pad broja *Salmonella* spp. u odnosu na početak ispitivanja.

**Tabela 7.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	6,22 <sup>AB</sup> ±0,01	5,67 <sup>ABCabDE</sup> ±0,12	5,36 <sup>ABCaDE</sup> ±0,07	5,20 <sup>ABCDEF</sup> ±0,01	4,83 <sup>ABCDE</sup> ±0,10	4,88 <sup>ABCaDEF</sup> ±0,13
MAP+ 0,3% EUT	6,20±0,01	5,02 <sup>AFGHI</sup> ±0,31	5,01 <sup>AFGHbl</sup> ±0,25	4,64 <sup>AGHIJ</sup> ±0,05	4,31 <sup>AGHIJK</sup> ±0,05	4,36 <sup>AGHIJ</sup> ±0,09
MAP+ 0,6% EUT	6,19±0,01	4,41 <sup>BFJKLMN</sup> ±0,31	4,32 <sup>BFJKLMN</sup> ±0,25	4,25 <sup>BGJKLMNO</sup> ±0,05	4,00 <sup>BGLMNO</sup> ±0,05	4,06 <sup>BGJKLMN</sup> ±0,09
MAP+ 0,9% EUT	6,16 <sup>AC</sup> ±0,03	3,26 <sup>CGJOPQR</sup> ±0,21	3,12 <sup>CGJOPQ</sup> ±0,04	2,53 <sup>CHKPQRa</sup> ±0,18	2,12 <sup>CHLPQRS</sup> ±0,15	2,11 <sup>CHKOPQb</sup> ±0,12
Vakuum	6,22 <sup>Ca</sup> ±0,36	6,02 <sup>aHKOSTU</sup> ±0,07	5,60 <sup>aHKORST</sup> ±0,12	5,29 <sup>ILPSTU</sup> ±0,02	5,09 <sup>DIMPTUV</sup> ±0,05	5,14 <sup>aILORST</sup> ±0,07
Vakuum+ 0,3% EUT	6,20±0,01	5,32 <sup>bLPSV</sup> ±0,18	5,22 <sup>LPRUV</sup> ±0,10	4,83 <sup>DMQSV</sup> ±0,05	4,66 <sup>JNQTWX</sup> ±0,15	4,51 <sup>DMPRcU</sup> ±0,15
Vakuum+ 0,6% EUT	6,19±0,01	4,97 <sup>DMQTW</sup> ±0,15	4,74 <sup>DbMQSUW</sup> ±0,12	4,60 <sup>ENRTW</sup> ±0,14	4,16 <sup>ERUWXY</sup> ±0,07	4,19 <sup>EQScV</sup> ±0,05
Vakuum+ 0,9% EUT	6,17 <sup>Ba</sup> ±0,14	3,80 <sup>EINRUVW</sup> ±0,23	3,25 <sup>EINTVW</sup> ±0,06	2,78 <sup>FJOaUVW</sup> ±0,27	2,39 <sup>FKOSVY</sup> ±0,19	2,32 <sup>FJNbTUV</sup> ±0,21

**Napomena:** odnosi se na sve tabele i grafikone

- **MAP** – uzorci pakovani u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja
- **MAP+ 0,3% EUT** –uzorci pakovani u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana
- **MAP+ 0,6% EUT** –uzorci pakovani u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana
- **MAP+ 0,9% EUT** –uzorci pakovani u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana
- **Vakuum** –uzorci pakovani u vakum bez dodatka etarskog ulja
- **Vakuum+ 0,3% EUT** –uzorci pakovani u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana
- **Vakuum+ 0,6% EUT** –uzorci pakovani u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana
- **Vakuum+ 0,9% EUT** –uzorci pakovani u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana
- **A-Z**-ista slova u istoj koloni- statistički značajna razlika  $P < 0,01$
- **a-z** ista slova u istoj koloni- statistički značajna razlika  $P < 0,05$

Rezultati promene broja *Salmonella* spp.. u drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazani su u Tabeli 8. dok su promene u broju *Salmonella* spp. u uzavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu C (Tabele 9-16).

U drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje origana na početku skladištenja takođe nije utvrđeno prisustvo *Salmonella* spp. u nekontaminiranim uzorcima. Dok se u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima broj *Salmonella* spp. kretao se od  $6,26 \pm 0,02$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana do  $6,40 \pm 0,03$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja. Kao i u ogledu sa etarskim uljem timijna. Statistički značajne razlike uočene su već nultog dana i u ogledu sa dodatkom etarskog ulja origana. Broj *Salmonella* spp. bio je statistički značajno viši u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana od broja ovih bakterija u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja i uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja. Statistički značajno viši broj *Salmonella* spp. zabeležen je i u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana od broja ove patogene bakterije u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja, kao i u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja od broja *Salmonella* spp. u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. Trećeg dana skladištenja uočen je statistički značajan pad broja *Salmonella* spp. u svim uzorcima. Najveći pad zabeležen je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana gde je broj *Salmonella* spp. bio  $3,56 \pm 0,02$  log cfu/g, odnosno  $3,69 \pm 0,16$  log cfu/g. Namanji pad zabeležen je u uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana gde je broj ovih bakterija bio  $6,14 \pm 0,09$  log cfu/g, odnosno  $5,88 \pm 0,09$  log cfu/g. Statistički značajne razlike u broju *Salmonella* spp. ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ) uočene su između svih uzoraka sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, kao i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum u koje je etarko ulje origana dodato u koncentraciji od 0,9%. I šestog dana ispitivanja broj *Salmonella* spp. se smanjio u odnosu na treći dan, a trend opadanja se nastavio do 12. dana skladištenja. Statistički značajne razlike u broju *Salmonella* spp. nisu uočene samo između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum sa

dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa istom dodatom koncentracijom etarskog ulja. Devetog dana skladištenja broj *Salmonella* spp. bio je najniži u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $2,55 \pm 0,13$  log cfu/g), a najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $5,37 \pm 0,07$  log cfu/g). Statistički značajne razlike u broju *Salmonella* spp. zabeležene su između svih uzoraka ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ) sem uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum bez dodatka etarskog ulja origana, kao i uzoraka pakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana. Dvanestog dana ispitivanja više nije zabeležen rast *Salmonella* spp. u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom etarskog ulja origana u koncentraciji 0,9%. Statistički značajne razlike u broju *Salmonella* spp. zabeležene su između svih uzoraka ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ) sem uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,3 % etarskog ulja origana. Poslednjeg dana ispitivanja nije zabeležen rast *Salmonella* spp. u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana. Dok se broj *Salmonella* spp. nije značajnije menjao u ostalim uzorcima u odnosu na dvanaesti dan. Pa tako statsistički značajne razlike broju *Salmonella* spp. nisu uočene između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom etarskog ulja 0,3% origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa istom dodatom koncentracijom etrakog ulja. Dok su u uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja uočene statistički značajne razlike na nivou  $P < 0,05$ , a između ostalih uzoraka na nivou  $P < 0,01$ .

**Tabela 8.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	6,40 <sup>ABaCD</sup> ±0,02	5,88 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,09	5,40 <sup>ABCaDEF</sup> ±0,08	5,29 <sup>ABCDEF</sup> ±0,02	4,98 <sup>ABaCDE</sup> ±0,12	4,92 <sup>ABaCD</sup> ±0,14
MAP+ 0,3% EUO	6,35 <sup>bEcF</sup> ±0,02	4,81 <sup>AaHIJK</sup> ±0,18	4,42 <sup>AGHIJK</sup> ±0,04	4,07 <sup>AGHbcIJ</sup> ±0,09	4,00 <sup>AFGHI</sup> ±0,12	4,02 <sup>AEFG</sup> ±0,03
MAP+ 0,6% EUO	6,30 <sup>AbG</sup> ±0,03	4,57 <sup>BaLMNOP</sup> ±0,04	4,19 <sup>BGLMNO</sup> ±0,05	3,69 <sup>BGKLMN</sup> ±0,18	3,24 <sup>BFJKLM</sup> ±0,26	3,22 <sup>BEHIJ</sup> ±0,28
MAP+ 0,9% EUO	6,27 <sup>BEHI</sup> ±0,02	3,56 <sup>CHLQRS</sup> ±0,02	3,19 <sup>CHLPQR</sup> ±0,13	2,55 <sup>CHKOPQR</sup> ±0,13	<1	<1
Vakuum	6,40 <sup>cGHdJK</sup> ±0,03	6,14 <sup>DIMQTUV</sup> ±0,09	5,67 <sup>aIMPSTU</sup> ±0,09	5,37 <sup>bLOSTU</sup> ±0,07	5,24 <sup>aGJNOP</sup> ±0,04	5,22 <sup>aHKL</sup> ±0,06
Vakuum+ 0,3% EUO	6,35 <sup>aldL</sup> ±0,02	5,29 <sup>EJNRTWX</sup> ±0,13	4,67 <sup>DJNQSVW</sup> ±0,12	4,31 <sup>DcMPSVW</sup> ±0,17	4,26 <sup>CKNQR</sup> ±0,13	4,26 <sup>CFIKM</sup> ±0,05
Vakuum+ 0,6% EUO	6,31 <sup>CJ</sup> ±0,03	4,84 <sup>FOSUWY</sup> ±0,06	4,30 <sup>ERTVX</sup> ±0,02	3,83 <sup>EIQTVX</sup> ±0,16	3,61 <sup>DHLOQS</sup> ±0,14	3,55 <sup>DGJLM</sup> ±0,13
Vakuum+ 0,9% EUO	6,26 <sup>DFKL</sup> ±0,02	3,69 <sup>GKPVXY</sup> ±0,16	3,32 <sup>FKOUWX</sup> ±0,15	2,85 <sup>FJNRUWX</sup> ±0,12	2,05 <sup>EIMPRS</sup> ±0,05	<1

**Napomena:** odnosi se na sve tabele i grafikone

- **MAP+ 0,3% EUO** –uzorci pakovani u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana
- **MAP+ 0,6% EUO** –uzorci pakovani u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana
- **MAP+ 0,9% EUO** –uzorci pakovani u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana
- **Vakuum+ 0,3% EUO** –uzorci pakovani u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana
- **Vakuum+ 0,6% EUO** –uzorci pakovani u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana
- **Vakuum+ 0,9% EUO** –uzorci pakovani u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana
- **A-Z**-ista slova u istoj koloni- statistički značajna razlika  $P < 0,01$
- **a-z** ista slova u istoj koloni- statistički značajna razlika  $P < 0,05$

### **5.5.2. Broj enterobakterija**

Promena broja enterobakterija u nekontaminiranim uzorcima u prvom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazano je u Tabeli 9., dok su promene u broju enterobakterija u uzavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prikazane u Prilogu D (Tabele 1-8). Na početku perioda skladištenja broj enterobakterija u nekontaminiranim uzorcima kretao se između  $4,21\pm0,02$  log cfu/g (uzorci pakovani u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana) i  $5,02$  log cfu/g (uzorci pakovani u modifikovanu atmosferu i vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana), a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka, sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, odnosno modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja. Trećeg dana ispitivanja broj enterobakterija kretao se između  $3,93\pm0,11$  log cfu/g i  $5,35\pm0,10$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka, sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom etarskog ulja timijana u istoj koncentraciji. Šestog dana ispitivanja broj enterobakterija kretao se između  $4,12\pm0,03$  log cfu/g i  $5,39\pm0,04$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka, sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u

modifikovanu atmosferu, odnosno vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. Devetog dana ispitivanja broj enterobakterija kretao se između  $4,26 \pm 0,05$  log cfu/g i  $5,33 \pm 0,14$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka, sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka paovanim u modifikovanu amosferu sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja, odnosno vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana. Dvanaestog dana ispitivanja broj enterobakterija kretao se između  $4,19 \pm 0,05$  log cfu/g i  $5,27 \pm 0,05$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka, sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka paovanim u modifikovanu amosferu i vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana. Petnaestog dana ispitivanja broj enterobakterija bio je najniži u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $4,11 \pm 0,06$  log cfu/g), a najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana ( $5,83 \pm 0,21$  log cfu/g). Poslednjeg dana ispitivanja statistički značajne razlike u broju enterobakterija uočene su između svih poređenih grupa uzoraka ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka paovanim u

modifikovanu amosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana.

**Tabela 9.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	5,02 <sup>ABCDEF</sup> ±0,04	4,92 <sup>ABCDEF</sup> ±0,19	5,00 <sup>ABCDEF</sup> ±0,22	5,27 <sup>ABCa</sup> ±0,17	5,21 <sup>ABCDE</sup> ±0,07	5,62 <sup>ABCDEF</sup> ±0,17
MAP+ 0,3% EUT	4,63 <sup>AGHI</sup> ±0,05	4,46 <sup>AGHIJK</sup> ±0,07	4,46 <sup>AGHIJ</sup> ±0,06	4,47 <sup>ADEF</sup> ±0,09	4,89 <sup>AFGHI</sup> ±0,13	4,97 <sup>AGHI</sup> ±0,10
MAP+ 0,6% EUT	4,57 <sup>BJKL</sup> ±0,03	4,25 <sup>BGLMNO</sup> ±0,06	4,32 <sup>BKLa</sup> ±0,07	4,35 <sup>BGHI</sup> ±0,21	4,71 <sup>BJKLM</sup> ±0,18	4,80 <sup>BJK</sup> ±0,31
MAP+ 0,9% EUT	4,23 <sup>CGJMNO</sup> ±0,03	3,93 <sup>CHLPQR</sup> ±0,11	4,12 <sup>CGMNO</sup> ±0,03	4,26 <sup>CJKL</sup> ±0,05	4,19 <sup>CFJNOP</sup> ±0,05	4,11 <sup>CGJLMNa</sup> ±0,06
Vakuum	5,02 <sup>HKMPQ</sup> ±0,09	5,35 <sup>DIMPSTU</sup> ±0,10	5,39 <sup>DHKMPQR</sup> ±0,04	5,33 <sup>DGJbMN</sup> ±0,14	5,27 <sup>GKNQR</sup> ±0,05	5,83 <sup>HKLPQR</sup> ±0,21
Vakuum+ 0,3% EUT	4,61 <sup>DHNPR</sup> ±0,06	4,95 <sup>JNQSVW</sup> ±0,03	4,93 <sup>ILNPST</sup> ±0,09	5,05 <sup>EHKbO</sup> ±0,13	5,27 <sup>HLOST</sup> ±0,03	5,13 <sup>DMPS</sup> ±0,23
Vakuum+ 0,6% EUT	4,55 <sup>EIOS</sup> ±0,03	4,40 <sup>ERTVX</sup> ±0,02	4,52 <sup>EaOQSU</sup> ±0,14	4,97 <sup>FILM</sup> ±0,13	4,88 <sup>DPQSU</sup> ±0,29	5,07 <sup>ENQT</sup> ±0,15
Vakuum+ 0,9% EUT	4,21 <sup>FLQRS</sup> ±0,02	3,95 <sup>FKOUWX</sup> ±0,03	4,15 <sup>FJRTU</sup> ±0,09	4,29 <sup>aNO</sup> ±0,16	4,29 <sup>EIMRTU</sup> ±0,16	4,47 <sup>FlaRST</sup> ±0,07

Promena broja enterobakterija u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima u prvom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazana je u Tabeli 10. Dok su promene u broju enterobakterija u uzavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu D (Tabele 9-16). Broj enterobakterija u kontaminiranim uzorcima na početku skladištenja bio između  $6,07\pm0,06$  log cfu/g i  $6,31\pm0,03$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka ( $P<0,05$  ili  $P<0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, odnosno modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. Trećeg dana ispitivanja broj enterobakterija opao je u svim ispitivanim grupama uzoraka i kretao se između  $5,20\pm0,05$  log cfu/g i  $6,25\pm0,07$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka, sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja. Šestog dana ispitivanja broj enterobakterija kretao se između  $5,38\pm0,11$  log cfu/g i  $6,38\pm0,09$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka ( $P<0,05$  ili  $P<0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. Devetog dana ispitivanja broj enterobakterija kretao se između  $5,47\pm0,16$  log cfu/g i  $6,24\pm0,09$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa

uzoraka ( $P<0,05$  ili  $P<0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, odnosno vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja. Dvanaestog dana ispitivanja broj enterobakterija kratao se između  $5,77\pm0,17$  log cfu/g i  $6,63\pm0,34$  log cfu/g, a statsistički značajne razlike zabeležene su između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja ( $P<0,01$ ), između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $P<0,01$ ), i u modifikovanu atmosferu, odnosno vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $P<0,01$ ,  $P<0,05$ ), između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka i sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $P<0,01$ ,  $P<0,05$ ), i u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $P<0,01$ ), između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana ( $P<0,01$ ), između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana ( $P<0,01$ ) i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $P<0,05$ ). Na kraju perioda ispitivanja broj enterobakterija bio je najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana ( $6,94\pm0,15$  log cfu/g), a najniži u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $5,89\pm0,01$  log cfu/g). Petnaestog dana ispitivanja statistički značajne razlike u broju enterobakterija zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka ( $P<0,05$  ili  $P<0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, odnosno

vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja.

**Tabela 10.** Prosečan broj enterobakterija u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Grupe uzoraka	Dani ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	6,30 <sup>ABCDEF</sup> ±0,03	5,99 <sup>aABC</sup> ±0,12	6,18 <sup>ABCDEF</sup> ±0,09	6,18 <sup>aABbCD</sup> ±0,14	6,37 <sup>ABC</sup> ±0,11	6,81 <sup>ABCDEF</sup> ±0,13
MAP+ 0,3% EUT	6,19 <sup>AGHai</sup> ±0,01	5,86 <sup>DEFG</sup> ±0,09	5,88 <sup>AGHIJK</sup> ±0,04	5,96 <sup>aEFG</sup> ±0,14	6,21 <sup>ADEa</sup> ±0,14	6,35 <sup>AGHIJ</sup> ±0,10
MAP+ 0,6% EUT	6,14 <sup>BbJK</sup> ±0,03	5,80 <sup>aHIJK</sup> ±0,10	5,62 <sup>BGLMNOP</sup> ±0,07	5,85 <sup>AHI</sup> ±0,11	6,19 ±0,06 <sup>FGb</sup>	6,26 <sup>BJKLM</sup> ±0,05
MAP+ 0,9% EUT	6,07 <sup>CGbLM</sup> ±0,06	5,20 <sup>ADHLMNO</sup> ±0,05	5,41 <sup>CHLQRS</sup> ±0,07	5,47 <sup>BEHJKL</sup> ±0,16	5,77 <sup>DFHI</sup> ±0,17	5,89 <sup>CGJNOP</sup> ±0,01
Vakuum	6,31 <sup>HJLNOP</sup> ±0,03	6,25 <sup>BEILPQ</sup> ±0,07	6,38 <sup>DIMQTUV</sup> ±0,09	6,24 <sup>FIJMNO</sup> ±0,09	6,63 <sup>EGHJKL</sup> ±0,34	6,94 <sup>HKNQRS</sup> ±0,15
Vakuum+ 0,3% EUT	6,19 <sup>DMNcQ</sup> ±0,02	6,14 <sup>FJMRS</sup> ±0,18	6,11 <sup>JNRTaW</sup> ±0,06	5,96 <sup>bKMP</sup> ±0,06	6,19 <sup>IJc</sup> ±0,02	6,49 <sup>DLOQTU</sup> ±0,02
Vakuum+ 0,6% EUT	6,12 <sup>EaOc</sup> ±0,03	5,92 <sup>NPRT</sup> ±0,04	5,95 <sup>EOSuAX</sup> ±0,03	5,88 <sup>CLNb</sup> ±0,03	5,95 <sup>BK</sup> ±0,07	6,27 <sup>EPRT</sup> ±0,05
Vakuum+ 0,9% EUT	6,05 <sup>FIKPQ</sup> ±0,05	5,45 <sup>CGKOQST</sup> ±0,02	5,38 <sup>FKPVWX</sup> ±0,11	5,66 <sup>DGOPb</sup> ±0,12	5,89 <sup>CabLc</sup> ±0,04	6,04 <sup>FIMSU</sup> ±0,09

Promena broja enterobakterija u nekontaminiranim uzorcima u drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje origana prikazano je u Tabeli 11., dok su promene u broju enterobakterija u uzavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu D (Tabele 17-24).

Na početku ogleda broj enterobakterija bio je najniži u nekontaminiranim uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu odnosno vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $3,63\pm0,02$  log cfu/g), a najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $3,97\pm0,05$  log cfu/g). Nultog dana skladištenja broj enterobakterija bio je statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum bez dodatka etarskog ulja origana od broja ovih bakterija u uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% odnosno 0,9% etarskog ulja origana. Statistički značajne razlike ( $P<0,01$ ) u broju enterobakterija uočene su i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum odnosno modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja.

Trećeg dana ispitivanja broj enterobakterija je opao u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana. Dok je u ostalim uzorcima zabeležen manji ili veći rast ovih bakterija. Šestog dana ispitivanja najveći broj enterobakterija zabeležen je u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana ( $4,47\pm0,14$  log cfu/g) i bio je statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) od broja enterobakterija u drugim grupama uzoraka. Statistički značajne razlike u broju enterobakterija uočene su između svih uzoraka ( $P<0,01$  ili  $P<0,05$ ) sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3%, odnosno 0,6% etarskog ulja.

Devetog dana ispitivanja broj enterobakterija porastao je u svim uzorcima. Statistički značajne razlike ( $P<0,01$  ili  $P<0,05$ ) u broju enterobakterija zabeležene su između svih uzoraka. Sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog

ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% odnosno 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana. Porast broja enterobakterija nastavio se i dvanaestog dana u svim sem uzorcim apakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, uzoraka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana, u kojima je zabeležen pad ovih bakterija. Statistički značajne razlike u broju enterobakterija ( $P<0,01$ ) uočene su između svih. Sem uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu odnosno vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana. Ni između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% odnosno 0,9% etarskog ulja origana.

Petnaestog dana ispitivanja. Na kraju perioda skladištenja statistički značajne razlike u broju enterobakterija nisu uočene između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa 0,3% dodatkom etarskog ulja origana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% odnosno 0,6% etarskog ulja origana. Između uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% uočena je statistički značajna razlika u broju enterobakterija na nivou  $P<0,05$ . Dok su između ostalih uzoraka uočene statistički značajne razlike na nivou  $P<0,01$ . Na kraju ispitivanja broj enterobakterija bio je najniži u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana ( $3,50\pm0,04$  odnosno  $3,77\pm0,13$  log cfu/g), a najviši u uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja ( $4,84\pm0,08$ , odnosno  $4,64\pm0,09$  log cfu/g).

**Tabela 11.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	3,96 <sup>ABCD</sup> ±0,05	4,06 <sup>ABaC</sup> ±0,07	4,17 <sup>ABCaD</sup> ±0,08	4,33 <sup>ABCD</sup> ±0,04	4,45 <sup>ABCDEF</sup> ±0,12	4,64 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,09
MAP+ 0,3% EUO	3,91 <sup>EFGH</sup> ±0,04	3,95 <sup>DEFG</sup> ±0,06	4,08 <sup>FGHI</sup> ±0,02	4,18 <sup>aEFG</sup> ±0,03	4,21 <sup>AGHIJ</sup> ±0,05	4,26 <sup>AHIJK</sup> ±0,04
MAP+ 0,6% EUO	3,67 <sup>AEIJ</sup> ±0,02	3,76 <sup>ADHIJKL</sup> ±0,12	3,85 <sup>AFJKLMN</sup> ±0,11	3,97 <sup>AaHIJKL</sup> ±0,07	4,03 <sup>BKLM</sup> ±0,08	4,03 <sup>BHLMNOP</sup> ±0,04
MAP+ 0,9% EUO	3,63 <sup>BFKL</sup> ±0,02	3,49 <sup>BEHMNO</sup> ±0,08	3,47 <sup>BGJOPQb</sup> ±0,04	3,57 <sup>BEHMNO</sup> ±0,16	3,55 <sup>CGKNOPQ</sup> ±0,08	3,50 <sup>CILQRST</sup> ±0,04
Vakuum	3,97 <sup>IKMN</sup> ±0,05	4,18 <sup>FIMPQ</sup> ±0,12	4,47 <sup>CHKORST</sup> ±0,14	5,04 <sup>CFIMPQR</sup> ±0,09	4,79 <sup>DHLNRST</sup> ±0,11	4,84 <sup>DJMQUVW</sup> ±0,08
Vakuum+ 0,3% EUO	3,81 <sup>JLOP</sup> ±0,06	4,03 <sup>JNR</sup> ±0,11	4,17 <sup>LPRcU</sup> ±0,04	4,30 <sup>JNPST</sup> ±0,09	4,50 <sup>IMORUV</sup> ±0,07	4,39 <sup>ENRUaX</sup> ±0,08
Vakuum+ 0,6% EUO	3,69 <sup>CGMO</sup> ±0,03	3,86 <sup>aKOPS</sup> ±0,09	4,03 <sup>aMQScV</sup> ±0,03	4,23 <sup>KOQS</sup> ±0,11	4,19 <sup>EPSUW</sup> ±0,18	4,22 <sup>FOSVaY</sup> ±0,07
Vakuum+ 0,9% EUO	3,63 <sup>DHNP</sup> ±0,02	3,57 <sup>CGLQRS</sup> ±0,11	3,64 <sup>DINbTUV</sup> ±0,05	3,67 <sup>DILRT</sup> ±0,12	3,85 <sup>FJQTVW</sup> ±0,03	3,77 <sup>GKPTWXY</sup> ±0,13

Promena broja enterobakterija u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima u drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje origana prikazana je u Tabeli 12., dok su promene u broju enterobakterija u uzavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prikazane u prilogu D (Tabele 25-32). Na početku perioda ispitivanja, odnosno nultog dana, broj enterobakterija u kontaminiranim uzorcima kretao se između  $6,04\pm0,05$  log cfu/g i  $6,42\pm0,43$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka ( $P<0,05$  ili  $P<0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum, odnosno modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja. Trećeg dana ispitivanja broj enterobakterija opao je u svim ispitivanjim grupama uzoraka i kretao se između  $4,75\pm0,07$  log cfu/g i  $4,75\pm0,07$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka ( $P<0,05$  ili  $P<0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja. Šestog dana ispitivanja broj enterobakterija kretao se između  $5,03\pm0,12$  log cfu/g i  $6,55\pm0,27$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka ( $P<0,05$  ili  $P<0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja. Devetog dana ispitivanja broj enterobakterija kretao se između  $4,93\pm0,10$  log cfu/g i  $6,54\pm0,52$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka ( $P<0,05$  ili  $P<0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u

modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, odnosno modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja. Dvanaestog dana ispitivanja broj enterobakterija kretao se između  $5,01 \pm 0,10$  log cfu/g i  $6,58 \pm 0,13$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i vakuum bez dodatka etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa bez i sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja. Petnaestog dana ispitivanja, na kraju perioda skladištenja, broj enterobakterija bio je najniži u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana ( $5,44 \pm 0,04$  log cfu/g), a najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana ( $7,18 \pm 0,18$  log cfu/g). Statistički značajne razlike u broju enterobakterija zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja.

**Tabela 12.** Prosečan broj enterobakterija u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	6,42 <sup>ABCDE</sup> ±0,43	6,15 <sup>aABbC</sup> ±0,10	6,32 <sup>ABCaDEF</sup> ±0,11	6,32 <sup>ABCD</sup> ±0,09	6,49 <sup>ABCDE</sup> ±0,04	6,89 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,13
MAP+ 0,3% EUO	6,26 <sup>AFGaH</sup> ±0,06	5,92 <sup>aDEFG</sup> ±0,08	5,88 <sup>AGHIJ</sup> ±0,04	5,71 <sup>AEGH</sup> ±0,20	6,37 <sup>aFGH</sup> ±0,05	6,20 <sup>AHIJK</sup> ±0,04
MAP+ 0,6% EUO	6,17 <sup>BIJKL</sup> ±0,03	5,47 <sup>ADHIJKL</sup> ±0,17	5,61 <sup>BGJKLMNO</sup> ±0,06	5,76 <sup>BIJKL</sup> ±0,24	5,95 <sup>AaIJK</sup> ±0,07	5,84 <sup>BHLMNaO</sup> ±0,10
MAP+ 0,9% EUO	6,04 <sup>CFIMNO</sup> ±0,05	4,75 <sup>BEHMNO</sup> ±0,07	5,07 <sup>CHKPQR</sup> ±0,05	4,93 <sup>CEIMNO</sup> ±0,10	5,01 <sup>BFILMN</sup> ±0,10	5,44 <sup>CILPQR</sup> ±0,04
Vakuum	6,42 <sup>GJMPQ</sup> ±0,05	6,35 <sup>bFIMPQR</sup> ±0,08	6,55 <sup>aILPSTU</sup> ±0,27	6,51 <sup>FJMaP</sup> ±0,07	6,58 <sup>JLOPQ</sup> ±0,13	7,18 <sup>DJMPSTU</sup> ±0,18
Vakuum+ 0,3% EUO	6,37 <sup>aKNRS</sup> ±0,06	6,06 <sup>JNPS</sup> ±0,16	5,94 <sup>DMQSV</sup> ±0,05	6,09 <sup>NabQ</sup> ±0,04	5,70 <sup>CGMOR</sup> ±0,53	6,36 <sup>ENQSVW</sup> ±0,04
Vakuum+ 0,6% EUO	6,18 <sup>DOPRT</sup> ±0,03	5,97 <sup>KOQT</sup> ±0,04	5,95 <sup>ENRTVW</sup> ±0,06	6,54 <sup>GKObr</sup> ±0,52	6,01 <sup>DNPS</sup> ±0,14	6,05 <sup>FaRTVX</sup> ±0,07
Vakuum+ 0,9% EUO	6,04 <sup>EHLQST</sup> ±0,06	4,91 <sup>CGLRST</sup> ±0,08	5,03 <sup>FJOUW</sup> ±0,12	5,13 <sup>DHLPQR</sup> ±0,13	5,17 <sup>EHKQRS</sup> ±0,07	5,51 <sup>GKOUWX</sup> ±0,10

### **5.5.3. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija**

Promena broja aerobnih mezofilnih bakterija u nekontaminiranim uzorcima u prvom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazana je u Tabeli 13. dok su promene u broju aerobnih mezofilnih bakterija u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu E (Tabele 1-8).

Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa na početku skladištanja kretao se između  $5,21 \pm 0,01$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana i  $5,17 \pm 0,02$ , odnosno  $5,17 \pm 0,03$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana. Između pomenutih uzoraka sa najmanjim i najvećim brojem aerobnih mezofilnih bakterija uočene su statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) nultog dana ispitivanja. Trećeg dana ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija porastao je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum bez dodatka etarskog ulja i sa dodatkom etarskog ulja timijana u koncentraciji 0,3%, dok je neznatni rast zabeležen u uzorcima pakovanim u vakuum sa 0,6% etarskog ulja, a smanjenje broja ovih bakterija u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6 % i 0,9% etarskog ulja timijana ( $4,69 \pm 0,26$ ,  $4,08 \pm 0,18$  log cfu/g) kao i u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $4,32 \pm 0,09$  log cfu/g). Šestog dana ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija porastao je u svim uzorcima i taj trend rasta se nastavio do kraja perioda ispitivanja. Devetog dana ispitivanja nisu utvrđene statistički značajne razlike u broju aerobnih mezofilnih bakterija između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana.

Dvanaestog dana ispitivanja nisu uočene statistički značajne razlike u broju aerobnih mezofilnih bakterija između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, kao ni između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja. Pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% odnosno 0,6% etarskog ulja timijana. Razlike nisu uočene ni između uzoraka pakovanih u modifikovanu

atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana. Ni između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom etrarskog ulja u istoj koncentraciji. Petnaestog dana ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija bio je najviši u uzorcima pakovanim u vakuum ( $8,03 \pm 0,11$  log cfu/g) a najniži u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $6,02 \pm 0,07$  log cfu/g). Statistički značajne razlike uočene u broju aerobnih mezofilnih bakterija ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ) između svih uzoraka, sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom iste koncentracije etarskog ulja.

**Tabela 13.** Prosečan ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	5,21 <sup>ab</sup> ±0,01	5,77 <sup>ABCDE</sup> ±0,21	6,11 <sup>aABCDE</sup> ±0,08	6,56 <sup>ABCDEF</sup> ±0,05	6,67 <sup>ABCDE</sup> ±0,16	7,09 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,11
MAP+ 0,3% EUT	5,19±0,02	5,62 <sup>FGHIJ</sup> ±0,09	5,86 <sup>aFGHI</sup> ±0,13	6,18 <sup>AGHIJ</sup> ±0,12	6,39 <sup>EFGH</sup> ±0,03	6,57 <sup>AHIJKL</sup> ±0,09
MAP+ 0,6% EUT	5,18±0,03	4,69 <sup>AFKLMNO</sup> ±0,26	5,49 <sup>AFJKLMbM</sup> ±0,17	5,61 <sup>BGKLMN</sup> ±0,19	6,11 <sup>AIIJKL</sup> ±0,08	6,21 <sup>BHaMNO</sup> ±0,07
MAP+ 0,9% EUT	5,17 <sup>ac</sup> ±0,03	4,08 <sup>BGKPQR</sup> ±0,18	4,92 <sup>BGJNOPc</sup> ±0,11	5,31 <sup>CHOPQa</sup> ±0,04	5,69 <sup>BFIMNO</sup> ±0,13	6,02 <sup>ClaPQR</sup> ±0,07
Vakuum	5,21 <sup>cd</sup> ±0,01	6,19 <sup>CHLPSTU</sup> ±0,07	6,57 <sup>CHKNQRS</sup> ±0,19	7,16 <sup>DIKORST</sup> ±0,10	7,32 <sup>CGJMPQR</sup> ±0,09	8,03 <sup>DJMPSTU</sup> ±0,11
Vakuum+ 0,3% EUT	5,20±0,009	5,69 <sup>MQSVW</sup> ±0,14	6,07 <sup>LOQTU</sup> ±0,01	6,32 <sup>ELPRbU</sup> ±0,09	6,63 <sup>KNPaS</sup> ±0,11	6,84 <sup>EKNQSVW</sup> ±0,08
Vakuum+ 0,6% EUT	5,18±0,02	5,28 <sup>DINRTVX</sup> ±0,04	5,77 <sup>DbPRTV</sup> ±0,15	6,13 <sup>FMQSbV</sup> ±0,03	6,31 <sup>DOQaT</sup> ±0,03	6,46 <sup>FORTVX</sup> ±0,14
Vakuum+ 0,9% EUT	5,17 <sup>cd</sup> ±0,02	4,32 <sup>EJOUWX</sup> ±0,09	5,19 <sup>EIMcSUV</sup> ±0,06	5,51 <sup>GJNaTUV</sup> ±0,05	5,74 <sup>EHLRST</sup> ±0,37	6,19 <sup>GLUWX</sup> ±0,09

Promena broja aerobnih mezofilnih bakterija u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima u prvom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazano je u Tabeli 14., dok su promene u broju aerobnih mezofilnih bakterija u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu E (Tabele 9-16). U eksperimentalno kontaminiranim uzorcima na početku perioda ispitivanja broja aerobnih mezofilnih bakterija kretao se između  $6,57 \pm 0,07$  log cfu/g i  $6,82 \pm 0,05$  log cfu/g. Statistički značajne razlike u broju ovih bakterija uočene su između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu, odnosno vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja ( $P < 0,01$ ), između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu odnosno vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $P < 0,05$ ;  $P < 0,01$ ), između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $P < 0,01$ ), između uzoraka pakovanih u pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $P < 0,01$ ), između uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana. Trećeg dana ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija kretao se između  $6,26 \pm 0,06$  log cfu/g i  $7,36 \pm 0,06$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu, odnosno vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana, odnosno vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana. Šestog dana ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija je porastao u odnosu na treći dan ispitivanja i kretao se između  $6,68 \pm 0,21$  log cfu/g i  $7,51 \pm 0,05$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja,

između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzorka pakovanim u vakuum sa istom dodatkom koncentracijom etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzorka pakovanim u vakuum sa istom dodatkom koncentracijom etarskog ulja i između uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzorka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja. Devetog dana ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija je porastao u svim grupama uzoraka i kretao se između  $7,18 \pm 0,09$  log cfu/g i  $8,00 \pm 0,06$  log cfu/g, a statistički značajne razlike ( $P < 0,01$ ) zabeležene su između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana i svih grupa uzoraka u koja su dodato etarsko ulje i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i grupa uzoraka u koja su dodato etarsko ulje bez obzira na način pakovanja. Dvanaestog dana ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija kretao se između  $7,05 \pm 0,12$  log cfu/g i  $8,64 \pm 0,20$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzorka pakovanih u vakuum odnosno modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzorka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana i između uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzorka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana. Na kraju perioda ispitivanja odnosno petnaestog dana skladištenja, broj aerobnih mezofilnih bakterija bio je najniži u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $6,88 \pm 0,11$  log cfu/g), a najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $9,00 \pm 0,03$  log cfu/g). Statistički značajne razlike u broju aerobnih mezofilnih bakterija zabeležene su između svih ispitivanih grupa sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzorka pakovanih u vakuum sa dodatkom etarskog ulja timijana u istoj koncentraciji i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzorka pakovanih u vakuum sa dodatkom etarskog ulja timijana u istoj koncentraciji.

**Tabela 14.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Grupa uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	6,82 <sup>ABCD</sup> ±0,05	7,02 <sup>ABCDEF</sup> ±0,04	7,38 <sup>ABCaD</sup> ±0,04	7,83 <sup>ABCDEF</sup> ±0,12	8,22 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,12	8,49 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,18
MAP+ 0,3% EUT	6,55 <sup>aE</sup> ±0,41	6,64 <sup>AGHIJ</sup> ±0,30	7,08 <sup>AEFG</sup> ±0,08	7,33 <sup>AG</sup> ±0,08	7,48 <sup>AHJaJ</sup> ±0,08	7,86 <sup>AHIIaK</sup> ±0,12
MAP+ 0,6% EUT	6,64 <sup>AF</sup> ±0,06	6,45 <sup>BKL</sup> ±0,09	6,96 <sup>BbHcd</sup> ±0,04	7,24 <sup>BH</sup> ±0,05	7,36 <sup>BKLM</sup> ±0,07	7,26 <sup>BHLMNOP</sup> ±0,07
MAP+ 0,9% EUT	6,57 <sup>BaGH</sup> ±0,07	6,26 <sup>CGMNa</sup> ±0,06	6,71 <sup>CEbIJK</sup> ±0,21	7,21 <sup>CI</sup> ±0,34	7,05 <sup>CHKNOP</sup> ±0,12	6,89 <sup>CILQRS</sup> ±0,04
Vakuum	6,82 <sup>FGIJ</sup> ±0,05	7,36 <sup>DHKMOPQ</sup> ±0,06	7,51 <sup>FHILMN</sup> ±0,05	8,00 <sup>GHIJKL</sup> ±0,06	8,64 <sup>DILNQRS</sup> ±0,20	9,00 <sup>DJMQTUV</sup> ±0,03
Vakuum+ 0,3% EUT	6,56 <sup>HK</sup> ±0,42	6,99 <sup>ILNORS</sup> ±0,06	7,20 <sup>cJLO</sup> ±0,09	7,37 <sup>DJ</sup> ±0,06	7,69 <sup>EaMOQTU</sup> ±0,03	8,01 <sup>ENRTWX</sup> ±0,02
Vakuum+ 0,6% EUT	6,64 <sup>CI</sup> ±0,06	6,53 <sup>EaPR</sup> ±0,13	7,10 <sup>aKMP</sup> ±0,15	7,29 <sup>EK</sup> ±0,04	7,33 <sup>FPRT</sup> ±0,08	7,64 <sup>FaOSUWXY</sup> ±0,15
Vakuum+ 0,9% EUT	6,57 <sup>DEJK</sup> ±0,09	6,33 <sup>FJQS</sup> ±0,09	6,68 <sup>DGdNOP</sup> ±0,21	7,18 <sup>FL</sup> ±0,09	7,21 <sup>GJSU</sup> ±0,03	6,88 <sup>GKPVY</sup> ±0,11

Promena broja aerobnih mezofilnih bakterija u nekontaminiranim uzorcima u drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje origana prikazana je u Tabeli 15., dok su promene u broju aerobnih mezofilnih bakterija u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu E (Tabele 17-24).

U drugom delu ogleda prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa na početku skladištanja kretao se između  $4,29 \pm 0,02$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana i  $4,24 \pm 0,03$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijna. Trećeg dana skladištenja zabeležen je rast aerobnih mezofilnih bakterija u svim grupama uzoraka sem u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana gde je broj bakterija bio  $4,17 \pm 0,03$  log cfu/g, a najveći rast zabeležen je u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana gde je broj ovih bakterija porastao za 1 log. Statistički značajne razlike ( $P < 0,05$ ) između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana ili  $P < 0,01$  između ostalih grupa uzoraka) u broju aerobnih mezofilnih bakterija uočene su između svih ispitivanih uzoraka. Sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3%, odnosno 0,6% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% odnosno 0,9% etarskog ulja. Šestog dana skladištenja broj aerobnih mezofilnih bakterija je rastao u svim uzorcima, a najniži je bio u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,95 etarskog ulja origana. Nisu uočene statistički značajne razlike u broju aerobnih mezofilnih bakterija u uzorcima pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, kao i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% odnosno 0,9% etarskog ulja origana. Devetog dana ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija je i dalje rastao a statistički značajne razlike u broju ove grupe bakterija nisu uočene samo između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu bez

dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% i vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana. Davnaestog dana ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija je rastao u svim uozorcima, sem u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana gde je broj ovih bakterija neznatno opao u odnosu na deveti dan. Dvanaestog dana statistički značajne razlike u broja aerobnih mezodilnih bakterija nisu uočene između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, odnosno uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. Dok su između ostalik grupa zabeležene statistički značajne razlike ( $P<0,01$ ). Na kraju perioda skladištenja broj aerobnih mezofilnih bakterija bio je najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskih ulja ( $7,37\pm0,13$  log cfu/g) i u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodataka etarskog ulja ( $6,95\pm0,21$  log cfu/g), dok je najmanji broj bakterija bio u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $4,78\pm0,05$  log cfu/g). Statistički značajne razlike u broju aerobnih mezofilnih bakterija uočene su između svih uzoraka ( $P<0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana, kao ni između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum, odnosno modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana.

**Tabela 15.** Prosečan ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	4,29 <sup>ab</sup> ±0,02	5,20 <sup>ABCDE</sup> ±0,02	5,26 <sup>ABCD</sup> ±0,01	5,49 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,09	5,93 <sup>ABCDEF</sup> ±0,16	6,95 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,21
MAP+ 0,3% EUO	4,29 <sup>Ac</sup> ±0,03	4,71 <sup>AFGHIaJ</sup> ±0,10	5,11 <sup>aEF</sup> ±0,05	5,18 <sup>AHIJKa</sup> ±0,09	5,45 <sup>AGHIJK</sup> ±0,11	5,66 <sup>AHIJKL</sup> ±0,05
MAP+ 0,6% EUO	4,27±0,01	4,43 <sup>BFKLMN</sup> ±0,09	4,80 <sup>AaGHb</sup> ±0,03	4,71 <sup>BHbLMNO</sup> ±0,05	5,07 <sup>BGLMN</sup> ±0,09	5,34 <sup>BHMNOP</sup> ±0,07
MAP+ 0,9% EUO	4,24 <sup>aAdB</sup> ±0,03	4,17 <sup>CGKOPQ</sup> ±0,03	4,29 <sup>BEGJKLM</sup> ±0,11	4,52 <sup>C1bPQRS</sup> ±0,02	4,68 <sup>C1LOPQ</sup> ±0,04	4,78 <sup>CIMQRST</sup> ±0,05
Vakuum	4,29 <sup>de</sup> ±0,02	5,29 <sup>DHLORST</sup> ±0,06	5,62 <sup>CFHJcNO</sup> ±0,14	6,05 <sup>EJLPTUV</sup> ±0,18	6,98 <sup>DJMORST</sup> ±0,28	7,37 <sup>DJNQUVW</sup> ±0,13
Vakuum+ 0,3% EUO	4,29 <sup>Bf</sup> ±0,02	5,12 <sup>IMPRUV</sup> ±0,03	5,32 <sup>IKcP</sup> ±0,15	5,37 <sup>KMQTWX</sup> ±0,08	5,71 <sup>KNPRUV</sup> ±0,14	6,19 <sup>EKORUXY</sup> ±0,10
Vakuum+ 0,6% EUO	4,27±0,02	4,88 <sup>aNQSUW</sup> ±0,07	5,10 <sup>bLN</sup> ±0,02	5,14 <sup>FNR UW</sup> ±0,03	5,26 <sup>EQSU</sup> ±0,05	5,61 <sup>FPSVX</sup> ±0,11
Vakuum+ 0,9% EUO	4,24 <sup>bcef</sup> ±0,03	4,31 <sup>FEJTVW</sup> ±0,02	4,89 <sup>DMOP</sup> ±0,02	5,01 <sup>GaOSVX</sup> ±0,04	4,95 <sup>FTV</sup> ±0,09	5,39 <sup>GLTWY</sup> ±0,16

Promena broja aerobnih mezofilnih bakterija u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima u drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje origana prikazana je u Tabeli 16. dok su promene u broju aerobnih mezofilnih bakterija u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prikazane u Prilogu E (Tabele 25-32).

Na početku perioda ispitivanja u kontaminiranim uzorcima broj aerobnih mezofilnih bakterija kretao se između  $6,77 \pm 0,04$  log cfu/g i  $7,00 \pm 0,07$  log cfu/g. Trećeg dana ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija porastao je u uzorcima bez dodatka etarskog ulja origana, a opao u svim uzorcima sa dodatim etarskim uljem u različitim koncentracijama i kretao se između  $6,16 \pm 0,06$  log cfu/g i  $7,49 \pm 0,08$  log cfu/g. Statistički značajne razlike u broju aerobnih mezofilnih bakterija zabeležene su između svih grupa uzoraka ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom etarskog ulja u istoj koncentraciji i između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom etarskog ulja u istoj koncentraciji. Šestog dana ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija kretao se između  $5,95 \pm 0,05$  log cfu/g i  $7,56 \pm 0,09$  log cfu/g. Statistički značajne razlike u broju aerobnih mezofilnih bakterija zabeležene su između svih grupa uzoraka ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ), sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana. Devetog dana ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija kretao se između  $6,50 \pm 0,25$  log cfu/g i  $8,45 \pm 0,23$  log cfu/g, dok je dvanaestog dana zabeležio rast u skoro svim grupama uzoraka i kretao se između  $5,98 \pm 0,05$  log cfu/g i  $8,83 \pm 0,27$  log cfu/g. Statistički značajne razlike u broju aerobnih mezofilnih bakterija nisu uočene među uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3%, odnosno 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum sa istim dodatim koncentracijama etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u

vakuum sa doatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana. Petnaestog dana skladištenja, odnosno na kraju perioda ispitivanja broj aerobnih mezofilnih bakterija bio je najniži u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $6,20 \pm 0,05$  log cfu/g), a najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana ( $9,21 \pm 0,11$  log cfu/g). Statsitički značajne razlike u broju aerobnih mezofilnih bakterija zabeležene su između svih poređenih grupa uzoraka, sem uzoraka pakovanih u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovnih u vakuum sa dodatkom etarskog ulja u istoj koncentraciji i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana.

**Tabela 16.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Grupa uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	7,00 <sup>aABCD</sup> ±0,06	7,16 <sup>ABCDEF</sup> ±0,07	7,39 <sup>ABCDE</sup> ±0,06	7,90 <sup>ABCaDEF</sup> ±0,13	8,44 <sup>ABCaDEF</sup> ±0,07	8,79 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,10
MAP+ 0,3% EUO	6,92 <sup>aEFbcG</sup> ±0,03	6,30 <sup>AHIIa</sup> ±0,02	7,24 <sup>GHIJ</sup> ±0,03	6,86 <sup>AG</sup> ±0,42	7,30 <sup>AGHIJK</sup> ±0,05	6,98 <sup>AHIIaKL</sup> ±0,06
MAP+ 0,6% EUO	6,77 <sup>AEHI</sup> ±0,04	6,31 <sup>BKLMb</sup> ±0,02	6,17 <sup>AFKLa</sup> ±0,03	6,70 <sup>BH</sup> ±0,37	6,82 <sup>BGLMNO</sup> ±0,30	6,34 <sup>BHMN</sup> ±0,07
MAP+ 0,9% EUO	6,80 <sup>BFJK</sup> ±0,01	6,16 <sup>CHKNOP</sup> ±0,06	5,95 <sup>BGMNO</sup> ±0,05	6,50 <sup>CGHIJ</sup> ±0,25	5,98 <sup>CHLPQR</sup> ±0,05	6,20 <sup>CIOPb</sup> ±0,05
Vakuum	7,00 <sup>bHJLM</sup> ±0,07	7,49 <sup>DILNQRS</sup> ±0,08	7,56 <sup>KMPQR</sup> ±0,09	8,45 <sup>aIKLM</sup> ±0,23	8,83 <sup>aIMPSTU</sup> ±0,27	9,21 <sup>DJMOQRS</sup> ±0,11
Vakuum+ 0,3% EUO	6,93 <sup>IKNO</sup> ±0,05	6,52 <sup>EJMOQTU</sup> ±0,05	6,71 <sup>CHLNPS</sup> ±0,48	7,14 <sup>DJKb</sup> ±0,31	7,36 <sup>DNQSVW</sup> ±0,08	7,26 <sup>EaNPKTU</sup> ±0,04
Vakuum+ 0,6% EUO	6,82 <sup>CcLN</sup> ±0,04	6,38 <sup>FPRTV</sup> ±0,04	6,56 <sup>DlaOQb</sup> ±0,30	6,88 <sup>EL</sup> ±0,12	6,50 <sup>EJRTV</sup> ±0,29	6,49 <sup>FKbRTc</sup> ±0,37
Vakuum+ 0,9% EUO	6,77 <sup>DGMO</sup> ±0,04	6,18 <sup>GabSUV</sup> ±0,10	6,11 <sup>EJRSb</sup> ±0,10	6,60 <sup>FMb</sup> ±0,31	6,15 <sup>FKOUW</sup> ±0,08	6,21 <sup>GLSUc</sup> ±0,03

#### **5.5.4. Broj bakterija mlečne kiseline**

Promena broja bakterija mlečne kiseline u nekontaminiranim uzorcima u prvom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazana je u Tabeli 17. dok su promene u broju bakterija mlečne kiseline u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu F (Tabele 1-8).

Prosečan broj bakterija mlečne kiseline u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa na početku skladištanja kretao se između  $4,39 \pm 0,01$  odnosno  $4,40 \pm 0,02$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana i  $4,14 \pm 0,03$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana. Nultog dana skladištenja statistički značajne razlike u broju bakterija mlečne kiseline uočene su između svih uzoraka ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ) sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum bez dodatka etarskih ulja, kao i uzoraka sa različitim načinima pakovanja u koje su dodate iste koncentracije etarskog ulja (0,3%, 0,6% i 0,9%). Broj bakterija mlečne kiseline smanjio se trećeg dana skladištenja u svim uzorcima sem u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum između kojih nisu uočene statistički značajne razlike. U ovim uzorcima broj ovih bakterija je rastao u odnosu na početak ispitivanja i bio viši u poređenju sa ostalim uzorcima ( $P < 0,01$ ). Najniži broj bakterija bio je zabeležen u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $3,38 \pm 0,13$  odnosno  $3,44 \pm 0,15$  log cfu/g). Kao i nultog dana ispitivanja ni trećeg dana nisu uočene razlike u broju bakterija između uzoraka sa dodatkom iste koncentracije etarskog ulja timijana u odnosu na način pakovanja. Od šestog dana do kraja ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline je rastao u svim uzorcima. Šestog dana ispitivanja nisu uočene statistički značajne razlike u broju bakterija samo između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana, kao i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana. Devetog dana ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline porastao je u uzorcima pakovanim u vakuum u odnosu na uzorke pakovane u modifikovanu atmosferu i između ovih uzoraka je prvi put od početka skladištenja uočena statistički značajna razlika ( $P < 0,01$ ). Statistički značajne razlike u broju bakterija mlečne kiseline su uočene između svih uzoraka ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ) sem uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa

dodatkom 0,3%, odnosno 0,6% etarskog ulja timijana. Dvanaestog dana ispitivanja takođe su zabeležene statistički značajne razlike ( $P<0,05$  ili  $P<0,01$ ) u broju bakterija mlečne kiseline između svih uzoraka., sem između uzorka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzorka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana. Petnaestog dana ispitivanja u odnosu na početak skladištenja broj bakterija mlečne kiseline je statistički značajno porastao u svim uzorcima. Na kraju perioda skladištenja najmanji broj bakterija mlečne kiseline zabeležen je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $4,98\pm0,08$  log cfu/g), a najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $7,00\pm0,09$  log cfu/g). Statistički značajne razlike u broju bakterija mlečne kiseline nisu zabeležene između uzorka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i modifikovanu atmosferu sa dodatkom iste koncentracije etarskog ulja timijana, kao ni između uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzorka pakovanih u vakuum sa 0,6% odnosno 0,9% etarskog ulja timijana.

**Tabela 17.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	4,39 <sup>ABCDEF</sup> ±0,01	5,19 <sup>ABCDEF</sup> ±0,13	6,03 <sup>ABCaDE</sup> ±0,02	6,13 <sup>ABCDEF</sup> ±0,04	6,22 <sup>ABCabDE</sup> ±0,03	6,49 <sup>ABCDaEF</sup> ±0,02
MAP+ 0,3% EUT	4,23 <sup>AGHIJK</sup> ±0,02	4,19 <sup>AGHIaJ</sup> ±0,01	5,00 <sup>AFGHIJ</sup> ±0,02	5,26 <sup>AaGHIJ</sup> ±0,05	5,76 <sup>AFGHI</sup> ±0,07	6,15 <sup>AGHIJK</sup> ±0,07
MAP+ 0,6% EUT	4,18 <sup>BGaLMb</sup> ±0,01	3,86 <sup>BGKLMN</sup> ±0,17	4,54 <sup>BFKLMNb</sup> ±0,20	5,12 <sup>BaKLMN</sup> ±0,07	5,33 <sup>BFJKLMN</sup> ±0,09	5,78 <sup>BGLMN</sup> ±0,12
MAP+ 0,9% EUT	4,14 <sup>CHaNOc</sup> ±0,03	3,38 <sup>CHKOPQ</sup> ±0,13	4,14 <sup>CGKOPQR</sup> ±0,04	4,61 <sup>CGKOPQR</sup> ±0,07	4,97 <sup>CGJOPQR</sup> ±0,12	4,98 <sup>CHLOPQR</sup> ±0,08
Vakuum	4,40 <sup>ILNPQR</sup> ±0,02	5,39 <sup>ILORST</sup> ±0,12	6,14 <sup>HLOSTU</sup> ±0,03	6,31 <sup>DHLOSTU</sup> ±0,02	6,39 <sup>aHKOSTU</sup> ±0,03	7,00 <sup>DIMOSTU</sup> ±0,09
Vakuum+ 0,3% EUT	4,23 <sup>DMOPST</sup> ±0,01	4,27 <sup>DMPRUV</sup> ±0,03	5,84 <sup>aIMPSVW</sup> ±0,09	6,11 <sup>IMPSVW</sup> ±0,03	6,05 <sup>bILPSVW</sup> ±0,05	6,31 <sup>aNPSVW</sup> ±0,09
Vakuum+ 0,6% EUT	4,18 <sup>EJcQSd</sup> ±0,01	3,96 <sup>EaQSUW</sup> ±0,66	5,05 <sup>DNQTVX</sup> ±0,06	5,82 <sup>EJNQTVX</sup> ±0,02	5,82 <sup>DMQTVX</sup> ±0,12	5,91 <sup>EJQTVX</sup> ±0,06
Vakuum+ 0,9% EUT	4,14 <sup>FKbRTd</sup> ±0,03	3,44 <sup>FJNTVW</sup> ±0,15	4,73 <sup>EJbRUWX</sup> ±0,14	5,16 <sup>FRUWX</sup> ±0,16	5,62 <sup>ENRUWX</sup> ±0,04	5,66 <sup>FKRUWX</sup> ±0,09

Promena broja bakterija mlečne kiseline u eksperimentalno eksperimentalno kontaminiranim uzorcima u prvom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazana je u Tabeli 18. dok su promene u broju bakterija mlečne kiseline u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu F (Tabele 9-16). Nultog dana ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline kretao se između  $4,20 \pm 0,10$  log cfu/g i  $4,62 \pm 0,10$  log cfu/g. Trećeg dana ispitivanja uočen je značajan porast bakterija mlečne kiseline ( $5,77 \pm 0,26$ - $6,93 \pm 0,47$  log cfu/g) u svim ispitivanim grupama uzoraka, a statistički značajne razlike ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ) u broju ovih bakterija zabeležene su između svih grupa uzoraka sem između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,9% etarskog ulja. Šestog dana ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline kretao se između  $5,76 \pm 0,07$  log cfu/g i  $6,70 \pm 0,35$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% ( $P < 0,05$ ), 0,6% ( $P < 0,01$ ) i 0,9% ( $P < 0,05$ ) etarskog ulja timijana, pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja ( $P < 0,01$ ), između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja i svih ostalih grupa uzoraka ( $P < 0,01$ ) sem uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja. Devetog dana ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline kretao se između  $6,23 \pm 0,09$  log cfu/g i  $7,50 \pm 0,10$  log cfu/g, a statistički značajne razlike bile su zabeležene između svih grupa uzoraka sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa

dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja. Dvanaestog dana skladištenja broj bakterija mlečne kiseline kretao se između  $6,30 \pm 0,06$  log cfu/g i  $7,41 \pm 0,03$  log cfu/g, a statistički značajne razlike bile su zabeležene između svih grupa uzoraka sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i vakuum sa dodatkom etarskog ulja u istoj koncentraciji. Petnaestog dana skladištenja, odnosno na kraju perioda ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline bio je najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $7,37 \pm 0,13$  log cfu/g), a najniži u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $6,41 \pm 0,14$  log cfu/g). Statistički značajne razlike u broju bakterija mlečne kiseline bile su zabeležene između svih grupa uzoraka sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana.

**Tabela 18.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	4,57 <sup>AB</sup> ±0,06	6,25 <sup>AabB</sup> ±0,05	6,70 <sup>aAbCD</sup> ±0,35	7,12 <sup>abAcBC</sup> ±0,04	7,27 <sup>ABCDE</sup> ±0,04	7,26 <sup>ABCDEF</sup> ±0,06
MAP+ 0,3% EUT	4,46±0,07	6,03 <sup>cCd</sup> ±0,10	6,25 <sup>aE</sup> ±0,15	6,75 <sup>aDEF</sup> ±0,36	7,08 <sup>AaFGbH</sup> ±0,08 <sup>I</sup>	6,94 <sup>AGHaI</sup> ±0,06
MAP+ 0,6% EUT	4,46 <sup>CaD</sup> ±0,07	6,03 <sup>eDf</sup> ±0,13	6,15 <sup>AF</sup> ±0,02	6,72 <sup>bdGH</sup> ±0,27	6,94 <sup>BaJKLM</sup> ±0,05	6,81 <sup>BJKL</sup> ±0,10
MAP+ 0,9% EUT	4,21 <sup>AEFG</sup> ±0,11	6,23 <sup>AceFG</sup> ±0,09	5,76 <sup>bG</sup> ±0,07	6,23 <sup>ADdIJ</sup> ±0,09	6,30 <sup>CFJNOPQ</sup> ±0,06	6,41 <sup>CGJMNOb</sup> ±0,14
Vakuum	4,62 <sup>CEbcH</sup> ±0,10	6,93 <sup>aCDFHIJ</sup> ±0,47	6,93 <sup>EFGHIJ</sup> ±0,47	7,50 <sup>cEGIKLM</sup> ±0,10	7,41 <sup>GKNRST</sup> ±0,03	7,37 <sup>HKKPQR</sup> ±0,13
Vakuum+ 0,3% EUT	4,45 <sup>aFbI</sup> ±0,10	6,07 <sup>GHK</sup> ±0,10	6,34 <sup>H</sup> ±0,10	6,92 <sup>JKNO</sup> ±0,10	7,24 <sup>bLORUV</sup> ±0,10	6,97 <sup>DNPST</sup> ±0,10
Vakuum+ 0,6% EUT	4,45 <sup>GcJ</sup> ±0,08	5,97 <sup>bl</sup> ±0,17	6,21 <sup>Cl</sup> ±0,07	6,48 <sup>BLN</sup> ±0,03	6,91 <sup>DHPSUW</sup> ±0,06	6,77 <sup>EaOQSc</sup> ±0,05
Vakuum+ 0,9% EUT	4,20 <sup>BDHIJ</sup> ±0,10	5,77 <sup>BdfJK</sup> ±0,26	6,11 <sup>DJ</sup> ±0,03	6,23 <sup>CFHMO</sup> ±0,09	6,59 <sup>EIMQTVW</sup> ±0,16	6,60 <sup>FILbRTc</sup> ±0,07

Promena broja bakterija mlečne kiseline u nekontaminiranim uzorcima u drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje origana prikazana je u Tabeli 19. dok su promene u broju bakterija mlečne kiseline u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu F (Tabele 17-24). Na početku ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline u nekontaminiranim uzorcima kretao se između  $4,13\pm0,01$  log cfu/g i  $4,26\pm0,02$ . Nultog dana ispitivanja statistički značajne razlike u broju bakterija mlečne kiseline uočene su između svih grupa uzoraka sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom etarskog ulja u istim koncentracijama, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. Trećeg dana ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline kretao se između  $3,88\pm0,05$  log cfu/g i  $4,31\pm0,03$  log cfu/g. Broj ovih bakterija smanjio se u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana i u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, a porastao u ostalim grupama uzorka, dok je šestog dana ispitivanja njihov broj porastao u svim ispitavanim grupama uzoraka. Šestog dana ispitivanja uočene su statistički značajne razlike u broju bakterija između svih ispitivanih grupa uzoraka, sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana. Trend rasta bakterija mlečne kiseline je bio zabeležen i devetog dana ispitivanja kada se broj ovih bakterija kretao između  $4,31\pm0,07$  log cfu/g i  $5,40\pm0,03$  log cfu/g. Dvanaestog dana ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline opao je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, dok je zabeležio rast ostalim ispitivanim drupama uzoraka. Statistički značajne razlike u broju bakterija mlečne kiseline uočene su između svih ispitivanih grupa uzoraka sem između uzoraka pakovanim u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa istim dodatim koncentracijama etarskih ulja i između uzoraka pakovanim u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanim

u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana. Petnaestog dana ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline porastao je u svim grupama uzoraka i bio najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $6,11 \pm 0,12$  log cfu/g), a najniži u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana ( $4,24 \pm 0,07$  log cfu/g), bez statsitički značajnih razlika između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom etarskog ulja u istoj koncentraciji i između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom etarskog ulja u istoj koncentraciji.

**Tabela 19.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	4,26 <sup>ABCDEF</sup> ±0,02	4,27 <sup>ABCDE</sup> ±0,04	5,13 <sup>ABCaDE</sup> ±0,02	5,24 <sup>ABaCD</sup> ±0,06	5,33 <sup>ABCaDEF</sup> ±0,05	5,67 <sup>ABCDEF</sup> ±0,14
MAP+ 0,3% EUO	4,20 <sup>AGHIJK</sup> ±0,01	4,10 <sup>AFGHI</sup> ±0,10	4,99 <sup>AFGHbIJ</sup> ±0,06	5,12 <sup>EFGHI</sup> ±0,05	4,96 <sup>AGHIJJ</sup> ±0,07	5,24 <sup>AGHlabJ</sup> ±0,04
MAP+ 0,6% EUO	4,15 <sup>BGLM</sup> ±0,005	3,91 <sup>BFJK</sup> ±0,04	4,11 <sup>BFKLMN</sup> ±0,09	4,31 <sup>AEJKLMN</sup> ±0,07	4,68 <sup>BGKLMN</sup> ±0,03	4,77 <sup>BGKLMN</sup> ±0,12
MAP+ 0,9% EUO	4,13 <sup>CHNO</sup> ±0,01	3,88 <sup>CGLMa</sup> ±0,05	3,95 <sup>CGKOPQ</sup> ±0,06	4,77 <sup>BFJOPQR</sup> ±0,12	4,15 <sup>CHKOPQ</sup> ±0,02	4,24 <sup>CHKOPQ</sup> ±0,07
Vakuum	4,25 <sup>DILNPQR</sup> ±0,02	4,31 <sup>HJLbNO</sup> ±0,03	5,25 <sup>aHLORST</sup> ±0,05	5,40 <sup>aGKObST</sup> ±0,03	5,54 <sup>aILORST</sup> ±0,14	6,11 <sup>DILORST</sup> ±0,12
Vakuum+ 0,3% EUO	4,20 <sup>MOPST</sup> ±0,02	4,20 <sup>KMbPQ</sup> ±0,04	5,11 <sup>bMPRUv</sup> ±0,05	5,25 <sup>CIPbUV</sup> ±0,07	5,02 <sup>DJMPRbU</sup> ±0,06	5,52 <sup>aMPRUv</sup> ±0,26
Vakuum+ 0,6% EUO	4,16 <sup>EJQS</sup> ±0,02	3,99 <sup>DaNP</sup> ±0,06	4,26 <sup>DINQSUW</sup> ±0,05	4,53 <sup>HMQSU</sup> ±0,12	4,80 <sup>EQSbV</sup> ±0,16	4,95 <sup>EbQSUW</sup> ±0,12
Vakuum+ 0,9% EUO	4,14 <sup>FKRT</sup> ±0,01	3,97 <sup>EIOQ</sup> ±0,05	4,06 <sup>EJTVW</sup> ±0,07	4,53 <sup>DINRTV</sup> ±0,12	4,27 <sup>FNTUV</sup> ±0,16	4,40 <sup>FJNTVW</sup> ±0,06

Promena broja bakterija mlečne kiseline u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima u drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje origana prikazano je u Tabeli 20. dok su promene u broju bakterija mlečne kiseline u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu F (Tabele 25-32). Na početku ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima kretao se između  $4,20 \pm 0,06$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana do  $4,45 \pm 0,12$  log cfu/g u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja. Statistički značajne razlike u broju bakterija mlečne kiseline uočene su između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu, odnosno vakuum sa dodatkom 0,6% ( $P < 0,05$ ) i 0,9% ( $P < 0,01$ ) etarskog ulja origana i između uzoraka pakovanih vakuum bez dodatka etarskog ulja i uzoraka u modifikovanu atmosferu odnosno vakuum sa dodatkom 0,6% ( $P < 0,05$ ) i 0,9% ( $P < 0,01$ ) etarskog ulja origana. Trećeg dana ispitivanja zabeležen je porast bakterija mlečne kiseline u svim ispitivanim uzorcima. Statistički značajne razlike uočene su između svih ispitivanih grupa uzoraka sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum bez dodatka etarskog ulja origana, uzororaka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom etarskog ulja u istoj koncentraciji i između uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana. Šestog dana ispitivanja nisu uočene statsitički značajne razlike u broju bakterija mlečne kiseline između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, pakovanim u vakum bez i sa dodatkom 0,3% odnosno 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum, odnosno modifikovanu atmosferu sa doatkotm 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog uljha i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana. Devetog dana ispitivanja broj bakterija

mlečne kiseline porastao je u svim uzorcima i kretao se između  $5,34 \pm 0,25$  log cfu/g i  $7,32 \pm 0,07$  log cfu/g. Statistički značajne razlike ( $P < 0,05$  i  $P < 0,01$ ) u broju bakterija mlečne kiseline uočene su između svih ispitivanih grupa uzoraka sem između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu odnosno vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% odnosno 0,6% etarskog ulja origana i između uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana. Dvanaestog dana ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline opao je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja dok je rastao u ostalim grupama uzoraka. Broj bakterija mlečne kiseline kretao se između  $5,81 \pm 0,22$  log cfu/g i  $7,39 \pm 0,09$  log cfu/g, a statistički značajne razlike zabeležene su između svih grupa uzoraka sem uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom etarskog ulja origana u istim koncentracijama i između uzorka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana. Petnaestog dana skladištenja na kraju perioda ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline bio je najniži u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana ( $5,92 \pm 0,15$  log cfu/g), a najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $7,26 \pm 0,17$  log cfu/g). Statistički značajne razlike ( $P < 0,05$  i  $P < 0,01$ ) u broju bakterija mlečne kiseline uočene su između svih ispitivanih uzoraka sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa istim dodatim koncentracijama etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i između uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatim etarskim uljem origana u istoj koncentraciji.

**Tabela 20.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Grupa uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	4,44 <sup>aAbB</sup> ±0,14	6,39 <sup>ABCD</sup> ±0,04	6,50 <sup>aAB</sup> ±0,14	6,93 <sup>aAbCD</sup> ±0,08	7,15 <sup>ABCDE</sup> ±0,05	7,13 <sup>aBCDE</sup> ±0,08
MAP+ 0,3% EUO	4,31±0,05	6,22 <sup>EFGH</sup> ±0,03	6,27 <sup>CDE</sup> ±0,17	6,68 <sup>EFG</sup> ±0,26	7,07 <sup>FGHIJ</sup> ±0,08	6,81 <sup>aFGHIJ</sup> ±0,18
MAP+ 0,6% EUO	4,28 <sup>ac</sup> ±0,07	5,17 <sup>AEIJKL</sup> ±0,07	6,21 <sup>aFGH</sup> ±0,06	6,49 <sup>aHIJ</sup> ±0,12	6,17 <sup>AFKLMa</sup> ±0,07	6,05 <sup>AFKL</sup> ±0,06
MAP+ 0,9% EUO	4,20 <sup>AC</sup> ±0,06	4,67 <sup>BFIMNO</sup> ±0,33	5,18 <sup>ACFIJK</sup> ±0,11	5,34 <sup>AEHKLMb</sup> ±0,25	5,81 <sup>BGKNOP</sup> ±0,22	5,92 <sup>BGMNb</sup> ±0,15
Vakuum	4,45 <sup>cCdD</sup> ±0,12	6,29 <sup>JMPQ</sup> ±0,12	6,61 <sup>DGIbLM</sup> ±0,24	7,32 <sup>bFIKNOP</sup> ±0,07	7,39 <sup>CHLNQRS</sup> ±0,09	7,26 <sup>HKMOPQ</sup> ±0,17
Vakuum+ 0,3% EUO	4,31±0,05	6,22 <sup>KNRS</sup> ±0,04	6,35 <sup>JbN</sup> ±0,07	6,68 <sup>LNQ</sup> ±0,28	7,13 <sup>MOQTU</sup> ±0,12	6,69 <sup>CLNORS</sup> ±0,34
Vakuum+ 0,6% EUO	4,27 <sup>bd</sup> ±0,06	5,21 <sup>CGOPRT</sup> ±0,05	6,32 <sup>KLO</sup> ±0,05	6,47 <sup>CMOR</sup> ±0,07	6,11 <sup>DIPRT</sup> ±0,01	6,25 <sup>DlbPRc</sup> ±0,08
Vakuum+ 0,9% EUO	4,24 <sup>BD</sup> ±0,07	4,75 <sup>DHLQST</sup> ±0,29	5,24 <sup>BEHMNO</sup> ±0,07	5,74 <sup>DGJbPQR</sup> ±0,32	5,97 <sup>EJaSU</sup> ±0,08	5,93 <sup>EJQS<sup>c</sup></sup> ±0,08

## **5.6. pH vrednost**

Promena pH vrednosti u nekontaminiranim uzorcima u prvom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazana je u Tabeli 21. dok su promene u pH vrednosti u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu G (Tabele 1-8).

Na početku ispitivanja pH vrednost nekontaminiranih uzoraka kretala se između  $5,80 \pm 0,02$  i  $5,85 \pm 0,01$ , bez statistički značajnih razlika među ispitivanim grupama. Trećeg dana ispitivanja pH vrednost je opala u uzorcima u svim grupama uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu, dok je porast pH vrednosti zabeležen u svim uzorcima pakovanim u vakuum sa i bez dodatka etarskog ulja timijana. Trećeg dana skladištenja broj uočene su statistički značajne razlike u pH vrednosti između svih grupa uzoraka, sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu sa dodatkom 0,3%, odnosno 0,6% etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3%, odnosno 0,6% etarskog ulja, kao ni između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana. Šestog dana skladištenja pH vrednost je opala u skoro svim uzorcima, a statistički značajne razlike uočene su između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana ( $P < 0,05$ ), između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% odnosno 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $P < 0,01$ ), između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja ( $P < 0,01$ ), između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $P < 0,01$ ), između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $P < 0,01$ ), između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $P < 0,01$ ) i između uzoraka pakovanim u

modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3%, odnosno 0,9% etarskog ulja ( $P<0,01$ ). Trend pada pH vrednosti zabeležen je i devetog dana ispitivanja. Statistički značajne razlike između pH vrednosti zabeležene su između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum bez dodatka etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% ( $P<0,05$ ), odnosno 0,6% ( $P<0,01$ ) etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $P<0,01$ ), između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana ( $P<0,05$ ), između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $P<0,01$ ), između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja i sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana ( $P<0,01$ ) i između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana bez dodatka etarskog ulja i sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana ( $P<0,01$ ). Dvanaestog dana ispitivanja pH vrednost je porasla u uzorcima pakovanim u vakuum sa i bez dodatka etarskog ulja timijana, dok se u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa i bez dodatka etarskog ulja nije značajnije menjalo. Statistički značajne razlike uočene su između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i sa dodatkom 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6%, odnosno 0,9% etarskog ulja ( $P<0,05$ ) i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $P<0,05$ ). Petnaestog dana skladištenja odnosno na kraju perioda ispitivanja pH vrednost bila je najniža u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $5,72\pm0,01$ ), a najviša u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $5,72\pm0,01$ ). Statistički značajne razlike u pH vrednosti zabeležene su između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $P<0,05$ ), između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% ( $P<0,05$ ), 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana ( $P<0,01$ ), između uzoraka pakovanih modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa

dodatkom etarskog ulja u istoj koncentraciji ( $P<0,05$ ) i između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% odnosno 0,6% etarskog ulja ( $P<0,05$ ).

**Tabela 21.** Prosečan pH vrednost u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	5,84±0,02	5,78 <sup>ABCDE</sup> ±0,01	5,76 <sup>a</sup> ±0,03	5,70 <sup>aAB</sup> ±0,03	5,61 <sup>Aab</sup> ±0,07	5,75±0,03 <sup>A</sup>
MAP+ 0,3% EUT	5,83±0,02	5,75 <sup>FGHI</sup> ±0,03	5,75 <sup>a</sup> ±0,01	5,70 <sup>CbD</sup> ±0,02	5,70±0,01	5,77±0,01 <sup>a</sup>
MAP+ 0,6% EUT	5,80±0,02	5,74 <sup>AJKLM</sup> ±0,01	5,73 <sup>ABC</sup> ±0,01	5,72 <sup>EFGH</sup> ±0,01	5,69±0,13	5,78±0,01 <sup>B</sup>
MAP+ 0,9% EUT	5,83±0,005	5,76 <sup>NOPQ</sup> ±0,02	5,73 <sup>DEF</sup> ±0,01	5,73 <sup>IJKL</sup> ±0,01	5,75 <sup>Ac</sup> ±0,01	5,80±0,01 <sup>ACb</sup>
Vakuum	5,84±0,02	5,96 <sup>BFJNR</sup> ±0,01	5,86 <sup>AD</sup> ±0,01	5,62 <sup>aCEI</sup> ±0,03	5,63 <sup>c</sup> ±0,08	5,72±0,01 <sup>aBcd</sup>
Vakuum+ 0,3% EUT	5,83±0,01	5,95 <sup>CGKOS</sup> ±0,01	5,84 <sup>BE</sup> ±0,02	5,65 <sup>AbFJ</sup> ±0,01	5,71±0,02	5,76±0,01 <sup>c</sup>
Vakuum+ 0,6% EUT	5,85±0,01	5,95 <sup>DHLPT</sup> ±0,02	5,79±0,12	5,66 <sup>GK</sup> ±0,04	5,72 <sup>a</sup> ±0,01	5,77±0,02 <sup>d</sup>
Vakuum+ 0,9% EUT	5,83±0,01	5,87 <sup>EIMQRST</sup> ±0,01	5,84 <sup>CF</sup> ±0,02	5,62 <sup>BDHL</sup> ±0,02	5,73 <sup>b</sup> ±0,02	5,76±0,04 <sup>b</sup>

Promena pH vrednosti u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima u prvom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazana je u Tabeli 22. dok su promene u pH vrednosti u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu G (Tabele 9-16). Na početku perioda ispitivanja pH vrednost uzoraka kretala se između  $5,82 \pm 0,01$  i  $5,85 \pm 0,02$  bez statistički značajnih razlika između poređenih grupa uzoraka. Trećeg dana ispitivanja pH vrednost kretala se između  $5,80 \pm 0,02$  i  $5,99 \pm 0,01$ , a statistički značajne razlike uočene su između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6%, odnosno 0,9% etarskog ulja timijana ( $P < 0,01$ ;  $P < 0,05$ ), između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana ( $P < 0,01$ ), između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana ( $P < 0,01$ ), između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu, odnosno vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana. Šestog dana ispitivanja pH vrednost poređenih grupa uzoraka kretala se između  $5,72 \pm 0,01$  i  $5,92 \pm 0,03$  i opala u odnosu na treći dan ispitivanja. Devetog dana ispitivanja pH vrednost nastavila je da opada u svim uzorcima, sem u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu gde je zabeležila neznatni porast. Statistički značajne razlike u pH vrednosti uočene su između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, kao i uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana ( $P < 0,01$ ), između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3%, odnosno 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum bez ( $P < 0,01$ ) i sa dodatkom 0,9% ( $P < 0,05$ ) etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $P < 0,01$ ) i vakuum sa dodatkom 0,3% ( $P < 0,05$ ) i 0,6% ( $P < 0,01$ ) etarskog ulja. Dvanaestog dana ispitivanja pH vrednost je opala u svim uzorcima i kretala se između  $5,63 \pm 0,02$  i  $5,77 \pm 0,03$ , dok je petnaestog dana na kraju perioda istraživanja porasla u svim uzorcima i bila najviša u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $5,83 \pm 0,04$ ), a najniža u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $5,67 \pm 0,01$ ).

**Tabela 22.** Prosečna pH vrednost u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Grupa uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	5,84±0,01	5,84 <sup>Aa</sup> ±0,03	5,79±0,03 <sup>ABCDE</sup>	5,93 <sup>ABCDE</sup> ±0,02	5,76 <sup>ABCDE</sup> ±0,05	5,80 <sup>A</sup> ±0,02
MAP+ 0,3% EUT	5,82±0,01	5,86 <sup>B</sup> ±0,02	5,83±0,01 <sup>FGH</sup>	5,78 <sup>AFa</sup> ±0,01	5,77 <sup>FGHIJ</sup> ±0,03	5,75 <sup>BCDE</sup> ±0,03
MAP+ 0,6% EUT	5,85±0,02	5,99 <sup>ABCDE</sup> ±0,01	5,86±0,01 <sup>AIIaK</sup>	5,79 <sup>BGb</sup> ±0,05	5,68 <sup>AF</sup> ±0,03	5,83 <sup>BFGH</sup> ±0,04
MAP+ 0,9% EUT	5,82±0,01	5,93 <sup>aBF</sup> ±0,09	5,91±0,01 <sup>BFILMN</sup>	5,84 <sup>H</sup> ±0,08	5,72 <sup>KLMa</sup> ±0,03	5,82 <sup>CJK</sup> ±0,04
Vakuum	5,84±0,01	5,80 <sup>CFG</sup> ±0,02	5,72±0,01 <sup>CGJLOPOQ</sup>	5,67 <sup>CFGHCl</sup> ±0,05	5,64 <sup>BGK</sup> ±0,03	5,67 <sup>ADFILMN</sup> ±0,01
Vakuum+ 0,3% EUT	5,82±0,02	5,86 <sup>D</sup> ±0,03	5,82±0,01 <sup>aMOR</sup>	5,77 <sup>DcJ</sup> ±0,03	5,63 <sup>CHL</sup> ±0,02	5,75 <sup>GJLO</sup> ±0,02
Vakuum+ 0,6% EUT	5,85±0,02	5,86 <sup>E</sup> ±0,03	5,85±0,02 <sup>DNPS</sup>	5,73 <sup>EK</sup> ±0,03	5,63 <sup>DIM</sup> ±0,02	5,76 <sup>HKMP</sup> ±0,04
Vakuum+ 0,9% EUT	5,84±0,01	5,93 <sup>G</sup> ±0,08	5,92±0,03 <sup>EHKQRS</sup>	5,89 <sup>abIJK</sup> ±0,07	5,66 <sup>EJa</sup> ±0,03	5,83 <sup>ENOP</sup> ±0,04

Promena pH vrednosti u nekontaminiranim uzorcima u drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje origana prikazana je u Tabeli 23. dok su promene u pH vrednosti u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu G (Tabele 16-24). Nultog dana ispitivanja nisu uočene statistički značajne razlike između poređenih grupa uzoraka, a pH vrednost se kretala između  $6,01\pm0,01$  i  $6,06\pm0,02$  i bila viša nego u uzorcima mesa u prvom delu ogleda. Trećeg dana skladištenja pH vrednost je opala u svim uzorcima i kretala se između  $5,85\pm0,05$  i  $6,01\pm0,02$ . Statistički značajen razliku između pH vrednosti uzoraka zabeležene su između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana ( $P<0,01$ ), između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana ( $P<0,01$ ), između uzoraka pakovnih u modifikovnu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% ( $P<0,01$ ), odnosno 0,6% ( $P<0,05$ ) etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% ( $P<0,05$ ) odnosno 0,9% ( $P<0,01$ ) etarskog ulja origana. Šestog dana ispitivanja pH vrednost uzoraka se kretala u opsegu  $5,85\pm0,08$  do  $5,97\pm0,02$ , bez statsistički značajnih razlika između uzoraka. Devetog dana ispitivanja izmerena pH vrednost se kretala između  $5,86\pm0,03$  i  $5,96\pm0,03$ , a statsistički značajne razlike uočene su između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i svih ispitivanih grupa uzoraka ( $P<0,01$ ) sem između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja, između uzoraka pakovanih vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana ( $P<0,05$ ) i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $P<0,05$ ). Dvanaestog dana ispitivanja pH vrednost je opala u skoro svim ispitivanim grupama uzorake sem u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana gde je ostala na isptom nivou i kretala se između  $5,71\pm0,02$  i  $5,95\pm0,01$ , a statistički značajne razlike zabeležene su između svih uzoraka sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu, odnosno vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarsko ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i u vakuum sa dodatkom 0,3%, odnosno 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja i između uzoraka

pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom iste koncentracije etarskog ulja. Petnaestog dana skladištenja, odnosno na kraju perioda ispitivanja pH vrednost je bila viša u uzorcima sa dodatkom viših koncentracija etarskog ulja, a niža u uzorcima bez dodatka etarskog ulja. Najniža pH vrednost zabeležena je u uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja (5,78), a najviša u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $5,93 \pm 0,01$ ).

**Tabela 23.** Prosečan pH vrednost u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	6,06±0,02	5,94 <sup>A</sup> ±0,02	5,97 <sup>ab</sup> ±0,02	5,96 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,03	5,82 <sup>ABC</sup> ±0,01	5,78 <sup>ABCD</sup> ±0,06
MAP+ 0,3%EUO	6,01±0,01	5,89 <sup>B</sup> ±0,03	5,83 <sup>a</sup> ±0,12	5,88 <sup>A</sup> ±0,03	5,85 <sup>DEF</sup> ±0,01	5,82 <sup>EFbG</sup> ±0,04
MAP+ 0,6%EUO	6,03±0,01	5,88 <sup>C</sup> ±0,06	5,95±0,01	5,94 <sup>Ba</sup> ±0,04	5,84 <sup>GHI</sup> ±0,01	5,90 <sup>AEHIJ</sup> ±0,02
MAP+ 0,9%EUO	6,01±0,02	5,85 <sup>ADEa</sup> ±0,05	5,85 <sup>b</sup> ±0,08	5,95 <sup>C</sup> ±0,03	5,95 <sup>ADGJKL</sup> ±0,01	5,93 <sup>BFKL</sup> ±0,01
Vakuum	6,06±0,01	6,01 <sup>BCDabF</sup> ±0,02	6,03±0,32	5,92 <sup>D</sup> ±0,03	5,71 <sup>BEHJMNO</sup> ±0,02	5,76 <sup>bGHKMN</sup> ±0,05
Vakuum+ 0,3%EUO	6,02±0,01	5,95 <sup>E</sup> ±0,01	5,87±0,01	5,86 <sup>Eab</sup> ±0,03	5,82 <sup>KMaP</sup> ±0,01	5,78 <sup>ILOP</sup> ±0,01
Vakuum+ 0,6%EUO	6,03±0,01	5,93 <sup>ab</sup> ±0,04	5,93±0,05	5,88 <sup>F</sup> ±0,09	5,86 <sup>LNaQ</sup> ±0,01	5,88 <sup>CMO</sup> ±0,03
Vakuum+ 0,9%EUO	6,01±0,02	5,91 <sup>F</sup> ±0,03	5,92±0,03	5,95 <sup>Gb</sup> ±0,05	5,94 <sup>CFIOPQ</sup> ±0,04	5,91 <sup>DJNP</sup> ±0,02

Promena pH vrednosti u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima u drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje origana prikazano je u Tabeli 24. dok su promene u pH vrednosti u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu G (Tabele 25-32). Nultog dana ispitivanja pH vrednost kontaminiranih uzoraka kretala se između  $5,96\pm0,02$  i  $6,01\pm0,02$ . Na početku ispitivanja uočene su statistički značajne razlike ( $P<0,05$ ) između uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, između uzorka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu odnosno vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana. Trećeg dana ispitivanja pH vrednost je porasla u svim ispitivanim grupama uzoraka i kretala se između  $6,09\pm0,01$  i  $6,23\pm0,02$ . Statistički značajen razlike ( $P<0,01$ ) uočene su imedu uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i svih ostalih poređenih grupa, kao i između uzorka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja i između svih ostalih poređenih grupa, sem između uzorka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja i uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana. Šestog dana ispitivanja zabeležen je pad pH vrednosti u svim uzorcima. pH vrednost kretala se između  $5,81\pm0,01$  i  $5,98\pm0,05$ . Statistički značajne razlike ( $P<0,01$ ) između pH vrednosti zabeležene su između uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzorka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i između uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i ostalih grupa uzoraka. Devetog dana ispitivanja zabeležene su statistički značajne razlike u pH vrednosti između svih poredenih grupa uzoraka ( $P<0,05$  ili  $P<0,01$ ), sem izmedu uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzorka pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja, uzorka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja i uzorka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, između uzorka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom etarskog elja origana i uzorka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana i između uzorka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana. Dvanaestog dana ispitivanja pH vrednost kretala se između  $5,70\pm0,01$  i  $5,84\pm0,07$ , a statistički značajne razlike su uočene između uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu, odnosno vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, između uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana.

i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja i modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% odnosno 0,6% etarskog ulja origana i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarsko ulja origana i uzoraka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja i sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana. Petnaestog dana ispitivanja, na kraju skladištenja, pH vrednost je porasla u svim uzorcima u odnosu na dvanaesti dan ispitivanja i najviša je bila u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $5,90\pm0,01$ ), a najniža u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana ( $5,80\pm0,03$ ). Statistički značajne razlike između pH vrednosti zabeležene su između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana i sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana ( $P<0,01$ ), između uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i sa dodatkom etarskog ulja u koncentraciji 0,6% i 0,9% ( $P<0,01$ ), između uzoraka pakovanih u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,6% i uzoraka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja ( $P<0,05$ ) i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja i sa dodatkom etarskog ulja u sve tri ispitivane koncentracije ( $P<0,01$ ).

**Tabela 24.** Prosečna pH vrednost u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	5,98 $\pm$ 0,02	6,23 <sup>ABCDEF</sup> $\pm$ 0,02	5,93 <sup>A</sup> $\pm$ 0,07	5,69 <sup>ABaCD</sup> $\pm$ 0,02	5,70 <sup>AB</sup> $\pm$ 0,01	5,89 <sup>ABCDE</sup> $\pm$ 0,03
MAP+ 0,3%EUO	5,99 $\pm$ 0,03	6,11 <sup>AG</sup> $\pm$ 0,01	5,81 <sup>ABCDEFG</sup> $\pm$ 0,01	5,72 <sup>FGHI</sup> $\pm$ 0,01	5,76 <sup>CD</sup> $\pm$ 0,01	5,80 <sup>AFG</sup> $\pm$ 0,03
MAP+ 0,6%EUO	6,00 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,02	6,11 <sup>BH</sup> $\pm$ 0,01	5,94 <sup>B</sup> $\pm$ 0,01	5,76 <sup>AFJbK</sup> $\pm$ 0,03	5,75 <sup>EF</sup> $\pm$ 0,02	5,87 <sup>Fab</sup> $\pm$ 0,01
MAP+ 0,9%EUO	5,96 <sup>ac</sup> $\pm$ 0,02	6,09 <sup>CI</sup> $\pm$ 0,01	5,96 <sup>C</sup> $\pm$ 0,03	5,84 <sup>BGJLMNO</sup> $\pm$ 0,01	5,84 <sup>ACGHI</sup> $\pm$ 0,07	5,90 <sup>GHIJK</sup> $\pm$ 0,01
Vakuum	5,98 $\pm$ 0,01	6,22 <sup>GHIJKL</sup> $\pm$ 0,03	5,95 <sup>D</sup> $\pm$ 0,02	5,72 <sup>bLPQ</sup> $\pm$ 0,01	5,64 <sup>DEFGJ</sup> $\pm$ 0,03	5,81 <sup>BaH</sup> $\pm$ 0,04
Vakuum+ 0,3%EUO	5,99 $\pm$ 0,03	6,11 <sup>DJ</sup> $\pm$ 0,01	5,91 <sup>E</sup> $\pm$ 0,06	5,73 <sup>aMRS</sup> $\pm$ 0,01	5,70 <sup>HK</sup> $\pm$ 0,02	5,81 <sup>CbI</sup> $\pm$ 0,02
Vakuum+ 0,6%EUO	6,01 <sup>cd</sup> $\pm$ 0,02	6,11 <sup>EK</sup> $\pm$ 0,01	5,91 <sup>F</sup> $\pm$ 0,05	5,80 <sup>CHNPRT</sup> $\pm$ 0,01	5,70 <sup>IL</sup> $\pm$ 0,01	5,83 <sup>DJ</sup> $\pm$ 0,03
Vakuum+ 0,9%EUO	5,96 <sup>bd</sup> $\pm$ 0,02	6,09 <sup>FL</sup> $\pm$ 0,02	5,98 <sup>G</sup> $\pm$ 0,05	5,97 <sup>DIKOQST</sup> $\pm$ 0,03	5,81 <sup>BJKL</sup> $\pm$ 0,06	5,83 <sup>EK</sup> $\pm$ 0,02

## **5.7. Sadržaj ukupnog isparljivog azota**

Promena količine ukupnog isparljivog azota u nekontaminiranim uzorcima u prvom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazana je u Tabeli 25. dok su promene u količini ukupnog isparljivog azota u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prikazane u Prilogu H (Tabele 1-8).

U prvom delu ogleda u nekontaminiranim uzorcima na početku skladištenja količina ukupnog isparljivog azota kretala se između  $10,94\pm0,25$  i  $11,42\pm0,51$  mg N/100g, bez statistički značajnih razlika između poređenih grupa. Trećeg dana skladištenja količina ukupnog isparljivog azota porasla je u svim uzorcima i trend rasta se nastavio do kraja perioda ispitivanja. Nije bilo statistički značajnih razlika u količini ukupnog isparljivog azota između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja. Šestog dana ispitivanja nisu uočene statistički značajne razlike u količini ukupnog isparljivog azota između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu odnosno pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja. Devetog dana ispitivanja količina ukupnog isparljivog azota kretala se između  $18,44\pm0,66$  i  $23,52\pm0,43$  mg N/100g. Statistički značajne razlike u količini ukupnog isparljivog azota uočene su između svih uzoraka sem uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u vakuuu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% odnosno 0,9% etarskog ulja. Dvanaestog dana ispitivanja količina ukupnog isparljivog azota kretala se između  $21,17\pm0,17$  i  $31,37\pm1,98$  mg N/100g, a statistički značajne razlike nisu uočene između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3%

etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3 % etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana. Petnaestog dana ispitivanja količina ukupnog isparljivog azota bila je najviša u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $34,06 \pm 0,83$  mg N/100g), a najniža u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom etarskog ulja ( $23,85 \pm 0,26$  mg N/100g). Statistički značajne razlike uočene su između svih uzoraka sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, kao ni između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana.

**Tabela 25.** Prosečna vrednost ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	11,42±0,51	13,85 <sup>ABCDEF</sup> ±0,24	17,90 <sup>ABCaDEF</sup> ±0,19	22,65 <sup>ABCaEF</sup> ±0,44	26,21 <sup>ABCDaEF</sup> ±0,26	29,14 <sup>ABCDEF</sup> ±0,61
MAP+ 0,3% EUT	11,39±0,12	12,97 <sup>AGHI</sup> ±0,11	16,13 <sup>AGHbc</sup> ±0,14	19,34 <sup>AbGHIJ</sup> ±0,17	23,65 <sup>AGH</sup> ±0,13	26,42 <sup>AGHIJK</sup> ±0,42
MAP+ 0,6% EUT	11,01±0,30	12,71 <sup>BJKL</sup> ±0,34	15,92 <sup>BIJK</sup> ±0,32	18,98 <sup>BKLMN</sup> ±0,11	22,67 <sup>BbIJ</sup> ±0,39	25,07 <sup>BGaLMN</sup> ±0,33
MAP+ 0,9% EUT	10,94±0,25	11,45 <sup>CGJMNOP</sup> ±0,27	14,87 <sup>CGILMNO</sup> ±0,15	18,44 <sup>CbOPQR</sup> ±0,66	21,17 <sup>CGbKLM</sup> ±0,17	23,85 <sup>CHaOPQb</sup> ±0,26
Vakuum	11,45±0,32	15,42 <sup>DHKMQRS</sup> ±0,18	18,52 <sup>aHJLPQR</sup> ±0,46	23,52 <sup>aGKOSTU</sup> ±0,43	31,37 <sup>DHGKNOP</sup> ±1,98	34,06 <sup>ILORST</sup> ±0,83
Vakuum+ 0,3% EUT	11,35±0,10	13,67 <sup>ILNQ TU</sup> ±0,13	16,71 <sup>DbKMPdS</sup> ±0,34	21,70 <sup>DHLPSc</sup> ±0,47	24,60 <sup>aHLNQ</sup> ±0,39	28,24 <sup>DJMPRUV</sup> ±0,40
Vakuum+ 0,6% EUT	11,23±0,32	13,09 <sup>EORT</sup> ±0,19	16,13 <sup>ENQde</sup> ±0,09	21,10 <sup>EIMQT</sup> ±0,43	23,29 <sup>EMO</sup> ±0,57	26,94 <sup>ENQSUW</sup> ±0,53
Vakuum+ 0,9% EUT	11,36±0,44	12,92 <sup>FPSU</sup> ±0,07	15,59 <sup>FcORSe</sup> ±0,38	20,78 <sup>FJNRUC</sup> ±0,38	22,22 <sup>FPQ</sup> ±0,67	25,07 <sup>FKbTVW</sup> ±0,80

Promena količine ukupnog isparljivog azota u eksperimentalno eksperimentalno kontaminiranim uzorcima u prvom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazana je u Tabeli 26. dok su promene u količini ukupnog isparljivog azota u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu H (Tabele 9-16).

U prvom delu ogleda u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima na početku skladištenja količina ukupnog isparljivog azota kretala se između  $12,35\pm0,17$  i  $12,83\pm0,11$  mg N/100g. Na početku ispitivanja nisu uočene statistički značajne razlike u količini ukupnog isparljivog azota između porećenih uzoraka. Trećeg dana ispitivanja količina ukupnog isparljivog azota kretala se između  $16,12\pm0,24$  i  $21,87\pm0,35$  mg N/100g. Nisu uočene statistički značajne razlike između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja i pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja. Šestog dana skladištenja količina ukupnog isparljivog azota kretala se između  $24,56\pm0,37$  i  $29,10\pm0,43$  mg N/100g. Statistički značajne razlike u količini ukupnog isparljivog azota uočene su između svih uzoraka, sem uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, kao ni između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana. Devetog dana ispitivanja količina ukupnog isparljivog azota kretala se između  $26,51\pm0,30$  i  $34,33\pm1,64$  mg N/100g. Statistički značajne razlike u količini ukupnog isparljivog azota uočene su između svih uzoraka, sem uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6%, odnosno 0,9% etarskog ulja timijana. Dvanaestog dana skladištenja najveća količina ukupnog isparljivog azota bila je u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana ( $38,38\pm0,67$  mg N/100g), a najniža u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $28,38\pm0,38$  mg N/100g). Na kraju perioda ispitivanja statistički značajne razlike u količini ukupnog isparljivog azota uočene su između svih uzoraka. Sem uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih

u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom iste koncentracije etarskog ulja timijana.

**Tabela 26.** Prosečan TVN vrednost (mg N/100g) u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	12,83 <sup>aAB</sup> ±0,11	20,49 <sup>ABCDEF</sup> ±0,27	27,65 <sup>ABCDE</sup> ±0,24	30,75 <sup>aABCDEF</sup> ±0,85	36,07 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,51	43,69 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,45
MAP+ 0,3% EUT	12,42 <sup>a</sup> ±0,07	19,19 <sup>AGHIJ</sup> ±0,13	26,97 <sup>FGHIIJK</sup> ±0,03	29,42 <sup>aGHI</sup> ±0,33	31,99 <sup>AHIJKL</sup> ±0,47	31,85 <sup>AHIJaK</sup> ±0,54
MAP+ 0,6% EUT	12,35 <sup>Acd</sup> ±0,17	18,75 <sup>BKLMaN</sup> ±0,49	25,62 <sup>AGLMN</sup> ±0,47	28,48 <sup>AJKL</sup> ±0,29	29,99 <sup>BHMNOP</sup> ±0,35	29,14 <sup>BHLM</sup> ±1,14
MAP+ 0,9% EUT	12,42 <sup>B</sup> ±0,24	16,12 <sup>CGKOPQR</sup> ±0,24	24,56 <sup>BHLOPQb</sup> ±0,37	26,51 <sup>BGJMNO</sup> ±0,30	28,38 <sup>CIMQRSa</sup> ±0,38	29,33 <sup>CIOP</sup> ±0,36
Vakuum	12,76 <sup>c</sup> ±0,34	21,87 <sup>DHLOSTU</sup> ±0,35	29,10 <sup>CIMORST</sup> ±0,43	34,33 <sup>CHKMPQR</sup> ±1,64	38,38 <sup>DJNQTUV</sup> ±0,67	45,61 <sup>DJQRST</sup> ±0,50
Vakuum+ 0,3% EUT	12,76 <sup>d</sup> ±0,22	20,04 <sup>IMPSVW</sup> ±0,37	27,66 <sup>aNP UV</sup> ±0,41	30,32 <sup>LNPbS</sup> ±0,41	33,77 <sup>EKORTWX</sup> ±0,05	33,38 <sup>EaLPRUV</sup> ±0,54
Vakuum+ 0,6% EUT	12,44 ±0,15	19,30 <sup>EaQTVX</sup> ±0,05	26,11 <sup>DJQS UW</sup> ±0,33	28,79 <sup>DOQb</sup> ±0,04	31,92 <sup>FPSUWY</sup> ±0,05	30,51 <sup>FMSU</sup> ±0,84
Vakuum+ 0,9% EUT	12,48 ±0,30	17,17 <sup>FJNRUWX</sup> ±0,19	25,27 <sup>EKbTVW</sup> ±0,45	27,53 <sup>EIRS</sup> ±0,37	29,28 <sup>GLaVXY</sup> ±0,58	29,20 <sup>GKTV</sup> ±1,27

Promena količine ukupnog isparljivog azota u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima u drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje origana prikazana je u Tabeli 27. dok su promene u količini ukupnog isparljivog azota u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prikazane u Prilogu H (Tabele 17-24).

U drugom delu ogleda u nekontaminiranim uzorcima na početku skladištenja količina ukupnog isparljivog azota kretala se između  $9,28 \pm 0,03$  i  $9,29 \pm 0,04$  mg N/100g, bez statistički značajnih razlika između poređenih grupa. Trećeg dana skladištenja količina ukupnog isparljivog azota je porasla, a trend rasta se nastavio do kraja ispitivanja. Statistički značajne razlike uočene su između svih poređenih uzoraka sem uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, kao ni uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana. Šestog dana ispitivanja količina ukupnog isparljivog azota kretala se između  $10,35 \pm 0,09$  i  $17,84 \pm 0,54$  mg N/100g, a statistički značajne razlike uočene su između svih poređenih uzoraka sem uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, kao i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana. Devetog dana ispitivanja količina ukupnog isparljivog azota kretala se između  $12,67 \pm 0,16$  i  $26,21 \pm 0,06$  mg N/100g, a statistički značajne razlike uočene su između svih poređenih uzoraka sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, kao ni između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana. Dvanaestog dana skladištenja količina ukupnog isparljivog azota se kretala između  $14,96 \pm 0,06$  i  $30,02 \pm 0,07$  mg N/100g, a statistički značajne razlike u količini ukupnog isparljivog azota nisu uočene između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, kao ni između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana. Na kraju perioda skladištenja, odnosno petnaestog dana ispitivanja količina ukupnog isparljivog azota bila je najviša u uzorcima pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja.

( $17,31 \pm 0,48$  mg N/100g), a najniža u uzorcima pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana ( $31,95 \pm 0,36$  mg N/100g). Statistički značajne razlike u količini ukupnog isparljivog azota nisu zabeležene između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja, kao ni između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja.

**Tabela 27.** Prosečan TVN (mg N/100g) vrednost u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Grupa uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	9,29±0,04	11,80 <sup>ABCDEF</sup> ±0,11	16,19 <sup>ABCDEF</sup> ±0,12	20,01 <sup>ABCDaEF</sup> ±0,11	22,53 <sup>ABCDEF</sup> ±0,61	27,87 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,16
MAP+ 0,3% EUO	9,29±0,03	10,62 <sup>AaGHIJK</sup> ±0,16	14,24 <sup>AGHIJK</sup> ±0,08	17,27 <sup>AGHIJK</sup> ±0,16	19,63 <sup>AGHIJKL</sup> ±0,55	21,77 <sup>AHJKL</sup> ±0,39
MAP+ 0,6% EUO	9,29±0,03	10,27 <sup>BaLMNO</sup> ±0,06	12,67 <sup>BGLMNO</sup> ±0,08	12,82 <sup>BGLMNO</sup> ±0,38	17,52 <sup>BGMNOa</sup> ±0,53	19,91 <sup>BHMNOP</sup> ±0,43
MAP+ 0,9% EUO	9,29±0,04	9,53 <sup>CGLPQRS</sup> ±0,11	10,35 <sup>CHLPQRS</sup> ±0,09	12,67 <sup>CHLPQRS</sup> ±0,16	14,96 <sup>CHMPQRS</sup> ±0,06	17,31 <sup>CIMQRST</sup> ±0,48
Vakuum	9,29±0,04	13,06 <sup>DHMPPTUV</sup> ±0,08	17,84 <sup>DIMPPTUV</sup> ±0,54	26,21 <sup>DILPTUV</sup> ±0,06	30,02 <sup>DINPTUV</sup> ±0,07	31,95 <sup>DJNQUVW</sup> ±0,36
Vakuum+ 0,3% EUO	9,29±0,03	11,58 <sup>INQTXW</sup> ±0,04	15,93 <sup>JNQTXW</sup> ±0,11	19,38 <sup>aJMQTXW</sup> ±0,42	22,02 <sup>JOQTXW</sup> ±0,07	25,01 <sup>EKORUWY</sup> ±0,03
Vakuum+ 0,6% EUO	9,29±0,04	11,01 <sup>EJORUWY</sup> ±0,03	14,06 <sup>EORUWY</sup> ±0,07	17,15 <sup>ENRUXY</sup> ±0,06	18,11 <sup>EKRUXY</sup> ±0,40	21,03 <sup>FPSVWZ</sup> ±0,54
Vakuum+ 0,9% EUO	9,28±0,03	10,24 <sup>FKSVXY</sup> ±0,41	12,59 <sup>FKSVXY</sup> ±0,07	14,23 <sup>FKOSVWY</sup> ±0,52	16,60 <sup>FLaSVWY</sup> ±0,59	20,13 <sup>GLTWYZ</sup> ±0,67

Promena količine ukupnog isparljivog azota u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima u drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje origana prikazana je u Tabeli 28. dok su promene u količini ukupnog isparljivog azota u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prikazane u Prilogu H (Tabele 25-32). Nultog dana skladištenja nije bilo statistički značajnih razlika u količini ukupnog isparljivog azota, a vrednosti su se kretale između  $10,67 \pm 0,21$  do  $10,84 \pm 0,26$  mg N/100g. Trećeg dana skladištenja količina ukupnog isparljivog azota je porasla u svim ispitivanim grupama, a trend porasta se nastavio do kraja ispitivanja. Statistički značajne razlike u količini ukupnog isparljivog azota nisu uočene između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, vakuum sa dodatkom 0,3% odnosno 0,9% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa 0,9% etarskog ulja, uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana, kao ni između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana. Šestog dana ispitivanja količina ukupnog isparljivog azota kretala se između  $19,37 \pm 0,04$  i  $28,31 \pm 0,02$  mg N/100g a statistički značajne razlike uočene su između svih grupa uzoraka, sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana. Devetog dana količina ukupnog isparljivog azota u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima kretala se između  $22,54 \pm 0,11$  i  $33,64 \pm 0,04$  mg N/100g, a dvanaestog dana ispitivanja između  $27,61 \pm 0,11$  i  $35,43 \pm 0,85$  mg N/100g, a statistički značajne razlike u količini ukupnog isparljivog azota zabeležene su između svih grupa sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom iste koncentracije etarskog ulja origana. Petnaestog dana skladištenja, odnosno na kraju perioda ispitivanja količina ukupnog isparljivog azota bila je najniža u uzorcima pakovanih u modifikovanu atmosferu sa

dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $29,96 \pm 0,66$  mg N/100g), a najviša u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana ( $46,18 \pm 0,97$  mg N/100g). Statistički značajne razlike uočene su između svih grupa uzoraka, sem između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana, uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, između uzorka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% odnosno 0,9% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% odnosno 0,9% etarskog ulja

**Tabela 28.** Prosečan TVN vrednost (mg N/100g) u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	10,84±0,26	14,99 <sup>ABCa</sup> ±0,11	25,01 <sup>ABCDaEF</sup> ±0,57	30,55 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,03	33,60 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,04	41,67 <sup>ABCDEFG</sup> ±1,34
MAP+ 0,3% EUT	10,70±0,26	14,91 <sup>bcd</sup> ±0,10	23,31 <sup>AGHIJKL</sup> ±0,48	25,23 <sup>AHIJK</sup> ±0,03	30,57 <sup>AHIJKL</sup> ±0,05	32,23 <sup>AHI</sup> ±1,21
MAP+ 0,6% EUT	10,67±0,24	14,24 <sup>AbEF</sup> ±0,11	21,08 <sup>BGMNOP</sup> ±0,40	23,51 <sup>BHLMNOP</sup> ±0,50	29,27 <sup>BHMNOaP</sup> ±0,20	30,61 <sup>BJK</sup> ±0,59
MAP+ 0,9% EUT	10,62±0,19	14,25 <sup>BcGH</sup> ±0,30	19,37 <sup>CHMQRST</sup> ±0,04	22,54 <sup>CILQRST</sup> ±0,11	27,61 <sup>CIMQRS</sup> ±0,11	29,96 <sup>CHLMN</sup> ±0,66
Vakuum	10,78±0,30	16,96 <sup>CDEGIJK</sup> ±0,63	28,31 <sup>DINQUVW</sup> ±0,02	33,64 <sup>DJMQUVW</sup> ±0,04	35,43 <sup>DJNQTVU</sup> ±0,85	46,18 <sup>DIJLOPQ</sup> ±0,97
Vakuum+ 0,3% EUT	10,75±0,34	15,21 <sup>FHILD</sup> ±0,39	25,93 <sup>aJORUXY</sup> ±0,48	28,18 <sup>EKNRUXY</sup> ±0,10	32,24 <sup>EKORTWX</sup> ±0,03	33,75 <sup>EKMOR</sup> ±0,68
Vakuum+ 0,6% EUT	10,67±0,24	14,36 <sup>aJL</sup> ±0,23	23,6 <sup>EPSVXZ</sup> 2±0,52	25,33 <sup>FOSVXa</sup> ±0,09	30,04 <sup>FaSUWY</sup> ±0,51	32,26 <sup>FNP</sup> ±0,63
Vakuum+ 0,9% EUT	10,67±0,21	14,60 <sup>Kd</sup> ±0,32	21,09 <sup>FKTWYZ</sup> ±0,49	24,96 <sup>GPTWYa</sup> ±0,03	28,11 <sup>GLPVXY</sup> ±0,09	30,63 <sup>GQR</sup> ±1,25

## **5.8. Oksidativne promene u mesu**

### **5.8.1. Lipoliza**

Promena kiselinskog broja u nekontaminiranim uzorcima u prvom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazana je u Tabeli 29. dok su promene u kiselinskom broju u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prikazane u Prilogu I (Tabele 1-9).

U prvom delu ogleda prilikom koga je ispitivan efekat etarskog ulja timijana. Na početku skladištenja nisu uočene statistički značajne razlike u kiselinskom broju između uzoraka mlevenog svinjskog mesa. Trećeg dana skladištenja došlo je do porasta kiselinskog broja u uzorcima pakovanih u modifikovanu atmosferu. Sa dodatkom etarskog ulja timijana u različitim koncentracijama i uzorcima u koje nije dodato etarsko ulje, u uzorcima pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana i uzorcima pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana. U uzorcima pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana kiselinski broj je bio statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) nego u svim drugim uzorcima. Kiselinski broj u uzorcima pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) nego kod uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana, uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana, uzoraka uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana. Statistički značajno manji kiselinski broj izmeren je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana u poređenju sa uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $P < 0,01$ ) i uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $P < 0,05$ ). Kiselinski broj u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskih ulja i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana bio je statistički značajno ( $P < 0,01$ ) veći od uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja. Šestog dana ispitivanja trend rasta kiselinskog broja se nastavio. Sem u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana gde je kiselinski broj bio isti kao i trećeg dana skladištenja. Kiselinski broj u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) u odnosu na uzorke pakovane u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana, uzorke pakovane u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana, uzorke pakovane u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana, uzorke pakovane u vakuum sa dodatkom

0,3% etarskog ulja timijana, uzorke pakovane u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i uzorke pakovane u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana. U uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja kiselinski broj bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) u donosu na uzorke pakovane u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana, uzorke pakovane u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana. Dok je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja kiselinski broj statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) u odnosu na uzorke pakovane u modifikovanu atmosferu sa 0,9% etarskog ulja i uzorke upakovane u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana. Kiselinski broj izmeren u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom etarskog ulja timijana u 0,9% koncentraciji, uzorke pakovane u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja bio je statistički značajno manji ( $P < 0,01$ ) u odnosu na uzorke pakovane u vakuum bez dodatka etarskog ulja. Kiselinski broj u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom etarskog ulja timijana u 0,6% koncentraciji. Devetog dana skladištenja kiselinski broj porastao je u svim uzorcima. Sem u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja u kojima je ostao na istom nivou kao i šestog dana skladištenja. Uzorci pakovani u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana imala su statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) kiselinski broj u poređenju sa ostalim uzorcima. Kiselinski broj izmeren u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) u odnosu na uzorke pakovane u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja, uzorke pakovane u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana. Uzorci pakovani u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja imala su statistički značajno veći kiselinski broj od uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $P < 0,05$ ), uzoraka pakovanih u vakuum sa 0,3% etarskog ulja timijana ( $P < 0,05$ ) i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $P < 0,01$ ). Uzorci pakovani u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja imala su statistički značajno veći kiselinski broj od uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $P < 0,05$ ), uzoraka pakovanih u vakuum sa 0,3% etarskog ulja timijana ( $P < 0,05$ ) i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $P < 0,01$ ). Statistički značajno veći kiselinski broj ( $P < 0,01$ ) izmeren je u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana u odnosu na uzorke pakovane u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. Kiselinski broj u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja bio je statistički značajno

manji ( $P < 0,01$ ) od kiselinskog broja izmerenog u uzorcima pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) od kiselinskog broja izmerenog u uzorcima pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. U uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja kiselinski broj bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) u odnosu na kiselinski broj uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom etarskog ulja timijana u koncentraciji od 0,9%. Dvanaestog dana ispitivanja kiselinski broj izmeren u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana i uzorcima pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) u odnosu na uzorke pakovane u vakuum bez dodatka etarskog ulja i uzorke pakovane u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9%. Kiselinski broj u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) u odnosu na kiselinski broj izmeren u uzorcima pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja i uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom etarskog ulja timijana u 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana. U uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa 0,9% etarskog ulja kiselinski broj bio je statistički značajno veći od ( $P < 0,01$ ) od kiselinskog broja u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka i sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja. Kiselinski broj u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja bio je statistički značajno veći od kiselinskog broja u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% ( $P < 0,05$ ) i 0,9% ( $P < 0,01$ ) etarskog ulja timijana. U uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana kiselinski broj bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) od kiselinskog broja u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana.

Na kraju skladištenja odnosno petnaestog dana ispitivanja kiselinski broj izmeren u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) u poređenju sa ostalim uzorcima. Kiselinski broj u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom etarskog ulja timijana u koncentraciji od 0,3% bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) u odnosu na kiselinski broj izmeren u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja i uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom etarskog ulja timijana u 0,3%, 0,6% i 0,9% koncentracijama. Kiselinski broj u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom etarskog ulja timijana u koncentraciji od 0,6% bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) u odnosu na kiselinski broj izmeren u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i statistički značajno manji ( $P < 0,05$ ) u odnosu na kiselinski broj izmeren u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana. Kiselinski

broj u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom etarskog ulja timijana u koncentraciji od 0,9% bio je statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) u odnosu na kiselinski broj izmeren u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i statistički značajno manji ( $P<0,01$ ) u odnosu na kiselinski broj izmeren u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana. U uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana kiselinski broj bio je statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) u odnosu na kiselinski broj izmeren u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja. Kiselinski broj u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom etarskog ulja timijana u koncentraciji od 0,3% bio je statistički značajno veći u odnosu na kiselinski broj izmeren u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja ( $P<0,05$ ) i uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $P<0,01$ ). Statistički značajno veći kiselinski broj ( $P<0,01$ ) izmeren je u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana u odnosu na uzorke pakovane u vakuum sa dodatkom etarskog ulja u koncentraciji od 0,9%.

**Tabela 29.** Prosečne vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Grupa uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	0,24±0,03	0,43 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,03	0,46 <sup>ABCDEF</sup> ±0,03	0,59 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,04	0,57 <sup>ABCD</sup> ±0,05	0,70 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,05
MAP+ 0,3% EUT	0,24±0,03	0,36 <sup>AHIJK</sup> ±0,03	0,41 <sup>AGHIJ</sup> ±0,03	0,52 <sup>AHIJ</sup> ±0,03	0,56 <sup>EFGH</sup> ±0,01	0,63 <sup>AHIJKL</sup> ±0,03
MAP+ 0,6% EUT	0,24±0,02	0,30 <sup>BHL<sup>a</sup></sup> ±0,03	0,40 <sup>BKLMN</sup> ±0,02	0,50 <sup>BabK</sup> ±0,03	0,52 <sup>IJK</sup> ±0,04	0,55 <sup>BHaM</sup> ±0,01
MAP+ 0,9% EUT	0,24±0,03	0,28 <sup>CIM</sup> ±0,03	0,29 <sup>CGKO</sup> ±0,02	0,49 <sup>CcdL</sup> ±0,02	0,54 <sup>LMNO</sup> ±0,01	0,51 <sup>CINO</sup> ±0,01
Vakuum	0,24±0,03	0,37 <sup>DLMNO</sup> ±0,01	0,44 <sup>OPQR</sup> ±0,02	0,44 <sup>DHacMN</sup> ±0,03	0,43 <sup>AEILaP</sup> ±0,01	0,60 <sup>DaNPQ</sup> ±0,02
Vakuum+ 0,3% EUT	0,25±0,03	0,33 <sup>EPQ</sup> ±0,01	0,33 <sup>DHLPS</sup> ±0,02	0,44 <sup>ElbdOP</sup> ±0,03	0,44 <sup>BFJMQ</sup> ±0,02	0,56 <sup>EJbR</sup> ±0,03
Vakuum+ 0,6% EUT	0,24±0,03	0,25 <sup>FJNP</sup> ±0,01	0,28 <sup>EIMQS</sup> ±0,02	0,51 <sup>FMOQ</sup> ±0,03	0,48 <sup>CGNaR</sup> ±0,01	0,51 <sup>FKPbS</sup> ±0,03
Vakuum+ 0,9% EUT	0,24±0,03	0,24 <sup>GKaOQ</sup> ±0,03	0,30 <sup>FJNR</sup> ±0,01	0,32 <sup>GJKLNPO</sup> ±0,03	0,33 <sup>DHKOPQR</sup> ±0,02	0,41 <sup>GLMOQRS</sup> ±0,03

Promena kiselinskog broja u nekontaminiranim uzorcima u drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje origana prikazana je u Tabeli 30. dok su promene u kiselinskom broju u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prikazane u Prilogu I (Tabele 9-16).

U drugom delu ogleda prilikom koga je ispitivano etarsko ulje origana nisu uočene statistički značajne razlike u vrednosti kiselinskog broja u uzorcima mesa i kiselinski broj u svim uzorcima iznosio je  $0,69 \text{ mg KOH/g}$ . Trećeg dana ispitivanja kiselinski broj se smanjio u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom  $0,6\% (0,26 \pm 0,02 \text{ mg KOH/g})$  i  $0,9\% (0,37 \pm 0,02 \text{ mg KOH/g})$  etarskog ulja origana i u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom  $0,3\% (0,51 \pm 0,02 \text{ mg KOH/g})$ ,  $0,6\% (0,47 \pm 0,02 \text{ mg KOH/g})$  i  $0,9\% (0,42 \pm 0,02 \text{ mg KOH/g})$  etarskog ulja origana. Statistički značajne razlike u kiselinskom broju zabeležene su između svih uzoraka ( $P < 0,05$  ili  $P < 0,01$ ), sem između uzoraka pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja i sa dodatkom  $0,3\%$  etarskog ulja origana. Šestog dana ispitivanja kiselinski broj je porastao u svim uzorcima, a taj rast se nastavio do kraja perioda skladištenja. Kao i trećeg dana skladištenja kiselinski broj je bio najviši u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana, a najniži u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom  $0,9\%$  etarskog ulja origana i taj odnos se zadržao do petnaestog dana ispitivanja. Šestog dana ispitivanja statistički značajne razlike u kiselinskom broju nisu uočene između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu, odnosno vakuum sa dodatkom  $0,3\%$  etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom  $0,3\%$  etarskog ulja origana i uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom  $0,6\%$  etarskog ulja origana, odnosno uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom  $0,3\%$  etarskog ulja, između uzoraka pakovanim u modifikovanu atmosferu sa doatkotm  $0,6\%$  etarskog ulja origana i uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom  $0,3\%$  odnosno  $0,6\%$  etarskog ulja origana. Statistički značajne razlike nisu uočene ni između uzoraka pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu sa dodatkom  $0,9\%$  etarskog ulja origana. Devetog dana skladištenja nisu uočene statistički značajne razlike u kiselinskom broju između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana i pakovanih u vakuum sa dodatkom  $0,3\%$  etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa doatkotm  $0,3\%$  etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana, odnosno uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom  $0,6\%$  etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u

modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, kao ni između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana. Dvanaestog dana skladištenja zabeležene su statistički značajne razlike u kiselinskom broju između svih ( $P < 0,01$ ) sem uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, kao ni između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana. Na kraju perioda ispitivanja, odnosno petnaestog dana skladištenja. Nisu uočene statistički značajne razlike u kiselinskom broju samo između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana, kao ni između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana. Statistički značajan rast kiselinskog broja zabeležen je u svim uzorcima u odnosu na početak skladištenja. Najviše vrednosti kiselinskog broja kao i u prvom delu ogleda zabeležene su u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja ( $1,65 \pm 0,02$  mg KOH/ g), a najniže u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana ( $0,97 \pm 0,01$  mg KOH/ g).

**Tabela 30.** Prosečne vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	0,69±0,02	0,68 <sup>ABCaDEF</sup> ±0,01	0,69 <sup>ABCDE</sup> ±0,01	0,92 <sup>AaBCDE</sup> ±0,02	1,08 <sup>ABCDEF</sup> ±0,02	1,65 <sup>ABCDEF</sup> ±0,02
MAP+ 0,3% EUO	0,69±0,02	0,51 <sup>AbGHIJK</sup> ±0,02	0,66 <sup>FGHal</sup> ±0,02	0,84 <sup>AFbGH</sup> ±0,03	0,97 <sup>AHIJK</sup> ±0,02	1,42 <sup>AHIJKLM</sup> ±0,03
MAP+ 0,6% EUO	0,69±0,02	0,47 <sup>BbLMNOP</sup> ±0,02	0,64 <sup>AJKL</sup> ±0,01	0,87 <sup>aIJK</sup> ±0,03	0,94 <sup>BLMN</sup> ±0,02	1,26 <sup>BHNaOP</sup> ±0,02
MAP+ 0,9% EUO	0,69±0,02	0,42 <sup>CGLQRST</sup> ±0,02	0,51 <sup>BGJMNO</sup> ±0,01	0,61 <sup>BFILMN</sup> ±0,01	0,86 <sup>CHLOPQR</sup> ±0,01	1,13 <sup>CINQRS</sup> ±0,04
Vakuum	0,69±0,01	0,64 <sup>AHMQUV</sup> ±0,01	0,74 <sup>CHKMPQR</sup> ±0,01	0,84 <sup>CLcOP</sup> ±0,03	0,91 <sup>DIOSTU</sup> ±0,01	1,29 <sup>DJQTVU</sup> ±0,01
Vakuum+ 0,3% EUO	0,69±0,02	0,64 <sup>DINRWX</sup> ±0,02	0,67 <sup>NPST</sup> ±0,01	0,89 <sup>bMcQR</sup> ±0,01	0,97 <sup>EPSVW</sup> ±0,01	1,21 <sup>EKaRTW</sup> ±0,03
Vakuum+ 0,6% EUO	0,69±0,02	0,37 <sup>EJOSUWY</sup> ±0,02	0,63 <sup>DaOQSU</sup> ±0,03	0,73 <sup>DGJNOQS</sup> ±0,01	0,81 <sup>FJMQTVX</sup> ±0,03	1,16 <sup>FLOUX</sup> ±0,04
Vakuum+ 0,9% EUO	0,69±0,01	0,26 <sup>FKPTVXY</sup> ±0,02	0,48 <sup>EILRTU</sup> ±0,02	0,61 <sup>EHKPRS</sup> ±0,02	0,76 <sup>GKNRUWX</sup> ±0,02	0,97 <sup>GMPSVWX</sup> ±0,01

### **5.8.2. Sadržaj malondialdehida (TKB vrednost)**

Promena sadržaja malondialdehida u nekontaminiranim uzorcima u prvom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje timijana prikazana je u Tabeli 31. dok su promene u količini malondialdehida u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu I (Tabele 17-24).

Između poređenih uzoraka nisu utvrđene statistički značajne razlike u sadržaju malondialdehida na početku skladištenja. Prosečan sadržaj malondialdehida nultog dana ispitivanja kretao se od  $0,11\pm0,01$  do  $0,12\pm0,01$  mg/kg. Trećeg dana ispitivanja koncentracija malondialdehida porasla u većini uzoraka i najviša je bila u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana ( $0,25\pm0,01$  mg/kg). Dok je najniža bila u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i iznosila je  $0,11\pm0,01$  mg/kg isto kao na početku ogleda. Sadržaj malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana, bio je statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) od ostalih ispitivanih uzoraka. Dok je sadržaj malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja iznosio  $0,17\pm0,01$  mg/kg i bio statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $0,13\pm0,01$  mg/kg), uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja ( $0,14\pm0,01$  mg/kg), uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja ( $0,13\pm0,01$  mg/kg) i uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $0,14\pm0,01$  mg/kg). U uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana sadržaj malondialdehida iznosio je  $0,14\pm0,01$  mg/kg i bio je statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana i statistički značajno manji ( $P<0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $0,18\pm0,01$  mg/kg). Sadržaj malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana bio je statistički znalačajno manji ( $P<0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. Sadržaj malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana, bio je statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) od ostalih ispitivanih uzoraka pakovanim u vakuum sa dodatkom etarskog ulja u

koncentracijama od 0,3%, 0,6% i 0,9%. U uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja sadržaj malondialdehida bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) od koncentracije malondialdehida u uzorcima pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana. Šestog dana skladištenja sadržaj malondialdehida je nastavio da raste i najviši je bio u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja ( $0,22 \pm 0,01$  mg/kg), a najniži u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $0,12 \pm 0,01$  mg/kg). Sadržaj malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana, bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u ostalim ispitivanim uzorcima. Dok je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana iznosio  $0,20 \pm 0,01$  mg/kg i bio statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $0,16 \pm 0,01$  mg/kg), uzorcima upakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% ( $0,16 \pm 0,01$  mg/kg), 0,6% ( $0,15 \pm 0,01$  mg/kg) i 0,9% ( $0,12 \pm 0,01$  mg/kg) etarskog ulja timijana. Sadržaj malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana ( $0,18 \pm 0,01$  mg/kg) bio je statistički značajno veći ( $P < 0,05$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja, kao i u uzorcima ( $P < 0,01$ ) pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja. Dok je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana bio statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. U uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja sadržaj malondialdehida ( $0,12 \pm 0,01$  mg/kg) bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) od sadržaja malondialdehida pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja, uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana. Dok je u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja sadržaj malondialdehida bio statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. Devetog dana ispitivanja, uopšteno posmatrajući trend rasta sadržaja malondialdehida se nastavio i najveći sadržaj malondialdehida bio je kao i prethodnih dana u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja ( $0,32 \pm 0,01$  mg/kg) i bio je statistički značajno veći ( $P < 0,01$ ) u poređenju sa ostalim ispitivanim uzorcima. Najmanji sadržaj malondialdehida bio je u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $0,12 \pm 0,01$  mg/kg). Dok se u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja nije menjao ( $0,15 \pm 0,01$  mg/kg). U uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% i

0,6% etarskog ulja timijana prosečan sadržaj malondialdehida iznosio je  $0,21\pm0,01$  odnosno  $0,20\pm0,01$  mg/kg i bio je statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $0,17\pm0,01$  mg/kg), uzorcima upakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% ( $0,17\pm0,01$  mg/kg), 0,6% i 0,9% ( $0,14\pm0,01$  mg/kg) etarskog ulja timijana i statistički značajno manji ( $P<0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana ( $0,25\pm0,01$  mg/kg). U uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana sadržaj malondialdehida bio je statistički značajno manji ( $P<0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana i statistički značajno veći od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% ( $P<0,05$ ) i 0,9% ( $P<0,01$ ) etarskog ulja timijana. U uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja sadržaj malondialdehida ( $0,25\pm0,01$  mg/kg) bio je statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana. Dok je u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja sadržaj malondialdehida bio statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. Dvanaestog dana ispitivanja sadržaj malondialdehida rastao je i bio najviši u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana ( $0,17\pm0,01$  mg/kg). Najmanji u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $0,14\pm0,01$  mg/kg). Dok je u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja sadržaj malondialdehida opao i iznosio je  $0,21\pm0,01$  mg/kg. Sadržaj malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana, bio je statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u ostalim ispitivanim uzorcima. U uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana sadržaj malondialdehida iznosio je  $0,22\pm0,01$  odnosno  $0,21\pm0,01$  mg/kg i bio statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% ( $0,18\pm0,01$  mg/kg), 0,6% ( $0,19\pm0,01$  mg/kg) i 0,9% ( $0,14\pm0,01$  mg/kg) etarskog ulja timijana. U uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja sadržaj malondialdehida bio je statistički značajno veći ( $P<0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja. Uzorci pakovani u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja, imali su statistički značajno veći sadržaj malondialdehida ( $P<0,01$ ) od uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. Na kraju perioda skladištenja, odnosno petnaestog dana ispitivanja sadržaj malondialdehida

bio je najviši u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana ( $0,65\pm0,01$  mg/kg) i statistički značajno veći ( $P< 0,01$ ) u odnosu na sadržaj malondialdehida u ostalim ispitivanim uzorcima. U uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana sadržaj malondialdehida je iznosio  $0,23\pm0,01$  mg/kg i bio statistički značajno veći ( $P< 0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana ( $0,20\pm0,01$  mg/kg), uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $0,17\pm0,01$  mg/kg), uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja ( $0,18\pm0,01$  mg/kg) i uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $0,13\pm0,01$  mg/kg) i statistički značajno manji ( $P< 0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja ( $0,29\pm0,01$  mg/kg). U uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana sadržaj malondialdehida bio je statistički značajno veći od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana ( $P< 0,01$ ), uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja ( $P< 0,05$ ) i uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja ( $P< 0,01$ ) i statistički značajno manji ( $P< 0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja. Sadržaj malondialdehida u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana sadržaj malondialdehida bio je statistički značajno veći ( $P< 0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja i statistički značajno manji ( $P< 0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja i uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja. U uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja sadržaj malondialdehida bio je statistički značajno veći ( $P< 0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana. Sadržaj malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja bio je statistički značajno veći ( $P< 0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana. Dok je u uzorcima pakovanim u vakuum sadržaj malondialdehida bio najmanji i statističko značajno manji ( $P< 0,01$ ) od sadržaja malondialdehida u ostalim ispitivanim uzorcima.

**Tabela 31.** Prosečne TBK vrednosti (mg MDA/ kg) u uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	0,12±0,01	0,25 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,01	0,22 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,01	0,32 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,01	0,40 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,01	0,65 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,01
MAP+ 0,3% EUT	0,12±0,01	0,17 <sup>AHIJK</sup> ±0,01	0,20 <sup>AHIJK</sup> ±0,01	0,21 <sup>AHIJKL</sup> ±0,01	0,22 <sup>AHIJ</sup> ±0,01	0,23 <sup>AHIJKL</sup> ±0,02
MAP+ 0,6% EUT	0,12±0,01	0,16 <sup>BLMNOPQ</sup> ±0,01	0,18 <sup>BaLMN</sup> ±0,01	0,20 <sup>BMNOPQ</sup> ±0,01	0,22 <sup>BKLM</sup> ±0,01	0,20 <sup>BHMINAO</sup> ±0,01
MAP+ 0,9% EUT	0,11±0,01	0,13 <sup>CHLMRS</sup> ±0,01	0,16 <sup>CHaOP</sup> ±0,01	0,17 <sup>CHMRaS</sup> ±0,01	0,21 <sup>CNOP</sup> ±0,01	0,17 <sup>CIMPQR</sup> ±0,01
Vakuum	0,12±0,01	0,18 <sup>DNRUV</sup> ±0,01	0,19 <sup>DOQRS</sup> ±0,01	0,25 <sup>DINRTUV</sup> ±0,01	0,21 <sup>DQRS</sup> ±0,01	0,29 <sup>DJNPSTU</sup> ±0,01
Vakuum+ 0,3% EUT	0,12±0,01	0,14 <sup>EIOTW</sup> ±0,01	0,16 <sup>EILQT</sup> ±0,01	0,17 <sup>EJOTW</sup> ±0,01	0,18 <sup>EHKNQT</sup> ±0,01	0,21 <sup>EQSVW</sup> ±0,01
Vakuum+ 0,6% EUT	0,12±0,01	0,13 <sup>FJPUX</sup> ±0,01	0,15 <sup>FJMRU</sup> ±0,01	0,15 <sup>FKPaU</sup> ±0,01	0,19 <sup>FIORU</sup> ±0,01	0,18 <sup>FKaTVX</sup> ±0,01
Vakuum+ 0,9% EUT	0,11±0,01	0,11 <sup>GKQSVWX</sup> ±0,01	0,12 <sup>GKNPSTU</sup> ±0,01	0,14 <sup>GLQSVW</sup> ±0,01	0,14 <sup>GJMPSTU</sup> ±0,01	0,13 <sup>GLORUWX</sup> ±0,01

Promena sadržaja malondialdehida u nekontaminiranim uzorcima u drugom delu ogleda u kome je ispitivano etarsko ulje origana prikazana je u Tabeli 32. dok su promene u količini malondialdehida u zavisnosti od načina pakovanja i dodate koncentracije etarskog ulja prkazane u Prilogu I (Tabele 25-32).

U drugom delu ogleda prilikom ispitivanja etarskog ulja origana. Na početku skladištenja nisu utvrđene statistički značajne razlike u količini malondialdehida između poređenih uzoraka. Prosečan sadržaj malondialdehida nultog dana ispitivanja kretao se od  $0,15\pm0,007$  do  $0,16\pm0,005$  mg/kg. Trećeg dana ispitivanja zabeležen je porast količine malondialdehida u svim, sem u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% ( $0,14\pm0,01$  mg MDA/kg) i 0,9% ( $0,09\pm0,01$  mg MDA/kg) etarskog ulja origana, gde je detektovana niža koncentracija malondialdehida nego na početku ispitivanja. Trećeg dana ispitivanja nisu uočene statistički značajne razlike u količini malondialdehida između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa doatkotm 0,3% odnosno 0,6% etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana, kao ni između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana. Prosečan sadržaj malondialdehida šestog dana ispitivanja kretao se od  $0,11\pm0,01$  do  $0,35\pm0,01$  mg/kg. Šestog dana ispitivanja uočene su statistički značajne razlike u količini malondialdehida između svih sem uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3%, odnosno 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana, kao ni između uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana. Devetog dana ispitivanja prosečan sadržaj malondialdehida kretao se od  $0,11\pm0,02$  do  $0,51\pm0,04$  mg/kg. Statistički značajne razlike u količini malondialdehida nisu uočene između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez i sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u

modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana, kao ni između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja origana. Dvanaestog dana ispitivanja količina malondialdeida je porasla u svim uzorcima i kretala se od  $0,14 \pm 0,01$  do  $0,67 \pm 0,01$  mg/kg. Statistički značajne razlike u količini malondialdehida su utvrđene između svih, sem uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskog ulja, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana, između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja, kao ni između uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana. Petnaestog dana ispitivanja najveća količina malondialdehida utvrđena je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana ( $0,75 \pm 0,01$  mg/kg), a namanja u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom etarskog ulja origana koja je ostala na istom nivou kao i na početku skladištenja. Statistički značajne razlike u količini malondialdehida nisu utvrđene između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum, kao ni između uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana i uzoraka pakovanih u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana.

**Tabela 32.** Prosečne TBK vrednosti (mg MDA/ kg) u uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Grupe uzoraka	Dan ispitivanja					
	0	3	6	9	12	15
MAP	0,16±0,005	0,25 <sup>aABCDEF</sup> ±0,02	0,35 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,01	0,51 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,04	0,67 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,01	0,75 <sup>ABCDEFG</sup> ±0,01
MAP+ 0,3% EUO	0,15±0,01	0,22 <sup>aGHIJ</sup> ±0,02	0,21 <sup>AHII</sup> ±0,03	0,23 <sup>AHII</sup> ±0,01	0,28 <sup>AHIJK</sup> ±0,02	0,34 <sup>AHIJKLM</sup> ±0,01
MAP+ 0,6% EUO	0,15±0,007	0,19 <sup>AbKLM</sup> ±0,02	0,22 <sup>BKLM</sup> ±0,03	0,21 <sup>BKL</sup> ±0,02	0,26 <sup>BLMN</sup> ±0,009	0,28 <sup>BHNOPQ</sup> ±0,02
MAP+ 0,9% EUO	0,15±0,007	0,16 <sup>BGBNO</sup> ±0,01	0,16 <sup>CHKaNO</sup> ±0,01	0,18 <sup>CHMN</sup> ±0,005	0,23 <sup>CHOPQ</sup> ±0,02	0,23 <sup>CINRST</sup> ±0,01
Vakuum	0,15±0,01	0,20 <sup>CPQR</sup> ±0,02	0,20 <sup>DaPQ</sup> ±0,01	0,24 <sup>DKMOPQ</sup> ±0,02	0,27 <sup>DORST</sup> ±0,02	0,29 <sup>DJRUUVW</sup> ±0,02
Vakuum+ 0,3% EUO	0,15±0,01	0,15 <sup>DHKNPS</sup> ±0,01	0,21 <sup>EERS</sup> ±0,02	0,20 <sup>EOR</sup> ±0,009	0,21 <sup>EIKRU</sup> ±0,02	0,24 <sup>EKOUXY</sup> ±0,01
Vakuum+ 0,6% EUO	0,15±0,01	0,14 <sup>EILOQT</sup> ±0,01	0,15 <sup>FILNPRb</sup> ±0,02	0,19 <sup>FIPS</sup> ±0,01	0,19 <sup>FJLPSV</sup> ±0,02	0,19 <sup>FLPSVXZ</sup> ±0,01
Vakuum+ 0,9% EUO	0,15±0,007	0,09 <sup>FJMRST</sup> ±0,01	0,11 <sup>GJMOQSb</sup> ±0,01	0,11 <sup>GJLNQRS</sup> ±0,02	0,14 <sup>GKMQTUV</sup> ±0,01	0,15 <sup>GMQTWYZ</sup> ±0,01

## **5.9. Promena koncentracije gasova u modifikovanoj atmosferi**

Promena koncentracije gasova u modifikovanoj atmosferi neeksperimentalno kontaminiranih uzoraka mesa sa i bez dodatka etarskog ulja timijana prikazana je u Tabeli 33. (Prilog J. Tabele 1-5).

U prvom delu ogleda na početku skladištenja koncentracija gasova je bila 30%O<sub>2</sub>/50%CO<sub>2</sub>/20%N<sub>2</sub>.

Tokom perioda skladištenja koncentracija kiseonika opadala je u svim pakovanjima i najizraženiji pad zabeležen je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja gde se kretala od 25,8% trećeg dana skladištenja do 16,6% poslednjeg, odnosno petnaestog dana skladištenja. U uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana, koncentracija kiseonika kretala se od 29,4%, 30% odnosno 30,9% trećeg dana skladištenja do 24,3%, 28,6% odnosno 30,1%.

Koncentracija ugljendioksida se najviše menjala tokom perioda skladištenja i u pakovanjima bez dodatka etarskog ulja timijana u odnosu na početak skladištenja opala je trećeg dana (40,2%) u uzorcima sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana do devetog dana je opadala kada je bila najniža (35%, 32,9%, 30,2%). Nakon čega je zabeležen rast koncentracije ugljendioksida u svim uzorcima. Tokom perioda skladištenja (od trećeg do petnaestog dana) najviša je bila u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana (40,2-52,4%). Potom u pakovanjima sa dodatkom 0,3% (36,1-42,3%) i 0,6% (36,1-37%) etarskog ulja timijana. Dok je najniža bila u pakovanjima sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana (36,3-35,1%).

Koncentracija azota se najmanje menjala tokom perioda skladištenja i između trećeg i petnaestog dana kretala se između 34 i 31% u modifikovanoj atmosferi bez dodatka etarskog ulja timijana, 34,5 i 33,4% u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana, 33,9 i 33,1% u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana i 34,4 i 34,8 u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana.

**Tabela 33.** Koncentracija gasova (%) u modifikovanoj atmosferi neeksperimentalno kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa sa dodatkom etarskog ulja timijana

Dan ispitivanja	MAP			MAP+ 0,3% EUT			MAP+ 0,6% EUT			MAP+ 0,9% EUT		
	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
3	25,8	40,2	34,0	29,4	36,1	34,5	30,0	36,1	33,9	30,9	36,3	32,8
6	21,2	42,4	36,4	29,0	35,3	35,7	30,3	33,6	36,1	30,1	31,9	38,0
9	18,1	44,1	37,8	29,4	35,0	35,6	30,3	32,9	36,8	30,4	30,2	39,4
12	17,7	53,7	28,6	23,3	42,6	34,1	29,7	36,3	34,0	30,8	33,4	35,8
15	16,6	52,4	31,0	24,3	42,3	33,4	28,6	37,0	34,4	30,1	35,1	34,8

Promena koncentracije gasova u modifikovanoj atmosferi u uzorcima mesa sa i bez dodatka etarskog ulja origana prikazana je u Tabeli 34 (Prilog J. Tabele 6-10).

Kao i u prvo i u drugom delu ogleda na početku skladištenja koncentracija gasova je bila 30%O<sub>2</sub>/50%CO<sub>2</sub>/20%N<sub>2</sub>.

Tokom perioda skladištenja koncentracija kiseonika opadala je u svim pakovanjima i najizraženiji pad zabeležen je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja gde se kretala od 27,5% trećeg dana skladištenja do 18,7% poslednjeg, odnosno petnaestog dana skladištenja. U uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3%, 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana, koncentracija kiseonika kretala se od 30,7%, 30,4% odnosno 30,7% trećeg dana skladištenja do 22,8%, 28,8% odnosno 29,7% petnaestog dana ispitivanja.

Najveće varijacije tokom skladištenja zabeležene su u koncentraciji ugljendioksida. Od početka perioda skladištenja opadala je u svim uzorcima i u pakovanjima bez dodatka etarskog ulja origana bila je najniža devetog dana (33,6%), u pakovanjima sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana bila je najniža šestog dana ispitivanja (34,2%), u pakovanjima sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana dvanaestog dana ispitivanja (33,5%) i u pakovanjima sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana devetog dana ispitivanja (32,1%). Kada je dostigla najnižu vrednost koncentracija ugljen dioksida je rasla u svim uzorcima do kraja perioda ispitivanja. Petnaestog dana ispitivanja najviša je bila u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana (43,4%). Potom u pakovanjima sa dodatkom 0,3% (38,7%) i 0,6% (36,7%) etarskog ulja origana, dok je najniža bila u pakovanjima sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana (34,4%). Koncentracija azota se tokom perioda skladištenja odnosno od trećeg do petnaestog dana kretala između 32,4 i 37,9% u

modifikovanoj atmosferi bez dodatka etarskog ulja origana, 31,8 i 38,5% u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana, 34,1 i 34,5% u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana i 35,1 i 35,9% u modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana.

**Tabela 34.** Koncentracija gasova (%) u modifikovanoj atmosferi neeksperimentalno kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Dan ispitivanja	MAP			MAP+ 0,3% EUO			MAP+ 0,6% EUO			MAP+ 0,9% EUO		
	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
3	27,5	40,1	32,4	30,7	37,5	31,8	30,4	35,5	34,1	30,7	34,2	35,1
6	28,1	35,8	36,1	27,8	34,2	38,0	30,9	34,8	34,3	29,4	33,5	37,1
9	22,7	33,6	43,7	25,5	37,5	37,0	29,0	33,9	37,1	30,6	32,1	37,3
12	18,9	38,5	42,6	23,5	36,0	40,5	28,8	33,5	37,7	29,9	32,5	37,6
15	18,7	43,4	37,9	22,8	38,7	38,5	28,8	36,7	34,5	29,7	34,4	35,9

## 5.10. Senzorne osobine

Promene senzornih osobina u nekontaminiranim uzorcima mesa (miris i boja) pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum, sa i bez dodatka etarskog ulja timijana i origana prikazane su u Tabeli 35. i Tabeli 36.

**Tabela 35.** Promene senzornih osobina tokom skladištenja u nekontaminiranim uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu, sa i bez dodatka etarskog ulja timijana ( $X \pm Sd$ )

Senzorne osobine	Uzorci	Dani skladištenja					
		0	3	6	9	12	15
Miris	MAP	8,4 <sup>ABCDEF</sup> ± 0,69	7,5 <sup>aAbB</sup> ± 0,52	6,6 <sup>AB</sup> ± 0,52	6,3 <sup>AB</sup> ± 0,67	6,1 <sup>ABC</sup> ± 0,57	5,1 <sup>AB</sup> ± 0,87
	MAP+ 0,3% EUT	6,7 <sup>AGHIJK</sup> ± 0,48	6,6 <sup>aCcD</sup> ± 0,70	6,4 <sup>CD</sup> ± 0,52	6,3 <sup>CD</sup> ± 0,48	6,3 <sup>DEF</sup> ± 0,67	6,3 <sup>CDE</sup> ± 0,67
	MAP+ 0,6% EUT	5,1 <sup>BGLMNO</sup> ± 1,10	5,1 <sup>ACEF</sup> ± 0,74	5,0 <sup>ACEF</sup> ± 0,66	5,0 <sup>ACE</sup> ± 1,05	4,9 <sup>ADG</sup> ± 0,87	4,9 <sup>CF</sup> ± 0,74
	MAP+ 0,9% EUT	3,5 <sup>CHLPQR</sup> ± 0,52	*	*	*	*	*
	Vakuum	8,4 <sup>IMPSTU</sup> ± 0,69	7,4 <sup>cEdG</sup> ± 0,51	6,3 <sup>EG</sup> ± 0,48	5,6 ± 0,52	4,5 <sup>BEH</sup> ± 0,53	3,7 <sup>BDFGH</sup> ± 0,82
	Vakuum+ 0,3% EUT	6,8 <sup>DNQSVW</sup> ± 0,42	6,62 <sup>bFdH</sup> ± 0,5	6,6 <sup>FH</sup> ± 0,70	6,2 <sup>Ea</sup> ± 0,63	6,1 <sup>GI</sup> ± 0,74	5,8 <sup>G</sup> ± 0,78
	Vakuum+ 0,6% EUT	5,2 <sup>EJRTVX</sup> ± 0,63	5,1 <sup>BDGH</sup> ± 0,57	5,0 <sup>BDGH</sup> ± 0,66	5,1 <sup>BDa</sup> ± 0,74	5,0 <sup>CFHI</sup> ± 0,66	4,9 <sup>CFEH</sup> ± 0,57
	Vakuum+ 0,9% EUT	3,4 <sup>FKOUWX</sup> ± 0,84	*	*	*	*	*
Boja	MAP	8,7 ± 0,48	8,3 <sup>A</sup> ± 0,48	7,9 <sup>A</sup> ± 0,57	7,7 <sup>Aa</sup> ± 0,48	7,4 <sup>abABC</sup> ± 0,52	7,3 <sup>ABC</sup> ± 0,48
	MAP+ 0,3% EUT	8,4 ± 0,52	8,3 <sup>B</sup> ± 0,48	8,2 <sup>B</sup> ± 0,42	8,2 <sup>BC</sup> ± 0,42	8,1 <sup>CDEF</sup> ± 0,32	8,0 <sup>DEFG</sup> ± 0,82
	MAP+ 0,6% EUT	8,4 ± 0,52	8,4 <sup>Ca</sup> ± 0,52	8,3 <sup>CD</sup> ± 0,48	8,3 <sup>DEF</sup> ± 0,48	8,2 <sup>aGHIJ</sup> ± 0,63	8,0 <sup>HJK</sup> ± 0,47
	MAP+ 0,9% EUT	8,4 ± 0,52	8,4 <sup>D<sub>b</sub></sup> ± 0,52	8,3 ± 0,48	8,3 <sup>GHI</sup> ± 0,48	8,2 <sup>bKLMN</sup> ± 0,42	8,1 <sup>LMNO</sup> ± 0,57
	Vakuum	8,7 ± 0,48	7,6 <sup>ABCDEFG</sup> ± 0,53	6,7 <sup>ABC</sup> ± 0,48	6,1 <sup>ABDGbJK</sup> ± 0,57	5,1 <sup>ACGKOPQ</sup> ± 0,57	4,7 <sup>ADHLaPQ</sup> ± 0,68
	Vakuum+ 0,3% EUT	8,3 ± 0,48	7,9 <sup>abE</sup> ± 0,32	7,6 <sup>D</sup> ± 0,52	6,9 <sup>aCEHb</sup> ± 0,32	6,0 <sup>BDHLOR</sup> ± 0,47	5,7 <sup>BEIMa</sup> ± 0,67
	Vakuum+ 0,6% EUT	8,3 ± 0,67	8,1 <sup>F</sup> ± 0,32	8,0 ± 0,47	7,3 <sup>FIJ</sup> ± 0,82	6,6 <sup>cEIMP</sup> ± 0,52	6,1 <sup>CFJNP</sup> ± 0,88
	Vakuum+ 0,9% EUT	8,3 ± 0,48	8,1 <sup>AG</sup> ± 0,32	8,1 ± 0,57	7,6 <sup>K</sup> ± 0,52	6,9 <sup>FJNQR</sup> ± 0,57	6,6 <sup>GKOQ</sup> ± 0,70

**Tabela 36.** Promene senzornih osobina tokom skladištenja u nekontaminiranim uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu, sa i bez dodatka etarskog ulja origana ( $X \pm Sd$ )

Senzorne osobine	Uzorci	Dani skladištenja					
		0	3	6	9	12	15
Miris	MAP	9,20 <sup>ABCDEF</sup> $\pm 0,42$	8,30 <sup>AaB</sup> $\pm 0,48$	8,10 <sup>ABC</sup> $\pm 0,57$	7,30 <sup>ABC</sup> $\pm 0,48$	6,60 <sup>aAB</sup> $\pm 0,52$	6,10 <sup>AB</sup> $\pm 0,57$
	MAP+ 0,3% EUT	7,90 <sup>AGHIJK</sup> $\pm 0,57$	7,60 <sup>CD</sup> $\pm 0,52$	7,50 <sup>DE</sup> $\pm 0,53$	7,40 <sup>DEF</sup> $\pm 0,52$	7,20 <sup>CDE</sup> $\pm 0,42$	7,10 <sup>ACDE</sup> $\pm 0,57$
	MAP+ 0,6% EUT	6,10 <sup>BGLMNO</sup> $\pm 0,99$	6,10 <sup>ACEF</sup> $\pm 0,74$	5,80 <sup>ADEF</sup> $\pm 0,79$	5,80 <sup>ADG</sup> $\pm 0,79$	5,70 <sup>aCbF</sup> $\pm 0,67$	5,60 <sup>CFG</sup> $\pm 0,52$
	MAP+ 0,9% EUT	4,4 <sup>CHLPQR</sup> $\pm 0,52$	*	*	*	*	*
	Vakuum	9,20 <sup>IMPSIU</sup> $\pm 0,42$	7,80 <sup>G</sup> $\pm 0,42$	7,60 <sup>EG</sup> $\pm 0,52$	6,30 <sup>BE</sup> $\pm 0,48$	4,90 <sup>ADbG</sup> $\pm 0,74$	4,40 <sup>BDFHI</sup> $\pm 0,51$
	Vakuum+ 0,3% EUT	7,61 <sup>DNQSVW</sup> $\pm 0,77$	7,23 <sup>aEH</sup> $\pm 0,60$	6,92 <sup>BFH</sup> $\pm 0,64$	6,85 <sup>GH</sup> $\pm 0,55$	6,69 <sup>FGH</sup> $\pm 0,58$	6,31 <sup>GHJ</sup> $\pm 0,75$
	Vakuum+ 0,6% EUT	6,0 <sup>EJRTVX</sup> $\pm 0,81$	6,0 <sup>BDFGH</sup> $\pm 0,66$	5,7 <sup>CEGH</sup> $\pm 0,67$	5,6 <sup>CFH</sup> $\pm 0,70$	5,5 <sup>BEH</sup> $\pm 0,71$	5,5 <sup>EIJ</sup> $\pm 0,53$
	Vakuum+ 0,9% EUT	4,4 <sup>FKOUWX</sup> $\pm 0,52$	*	*	*	*	*
Boja	MAP	9,3 <sup>abcd</sup> $\pm 0,48$	8,9 <sup>A</sup> $\pm 0,32$	8,2 <sup>A</sup> $\pm 0,42$	7,9 <sup>A</sup> $\pm 0,32$	7,9 <sup>aAB</sup> $\pm 0,57$	7,6 <sup>ABC</sup> $\pm 0,52$
	MAP+ 0,3% EUT	8,6 $\pm 0,52$	8,6 <sup>B</sup> $\pm 0,52$	8,4 <sup>B</sup> $\pm 0,52$	8,1 <sup>B</sup> $\pm 0,74$	8,1 <sup>CDE</sup> $\pm 0,32$	8,1 <sup>DEFG</sup> $\pm 0,32$
	MAP+ 0,6% EUT	8,5 <sup>a</sup> $\pm 0,53$	8,5 <sup>C</sup> $\pm 0,52$	8,5 <sup>CD</sup> $\pm 0,53$	8,5 <sup>CDa</sup> $\pm 0,71$	8,4 <sup>FGHI</sup> $\pm 0,52$	8,3 <sup>HJK</sup> $\pm 0,82$
	MAP+ 0,9% EUT	8,5 <sup>b</sup> $\pm 0,53$	8,5 $\pm 0,53$	8,7 <sup>EF</sup> $\pm 0,48$	8,6 <sup>Ebc</sup> $\pm 0,52$	8,5 <sup>aKLMN</sup> $\pm 0,71$	8,3 <sup>LMNO</sup> $\pm 0,67$
	Vakuum	9,2 $\pm 0,42$	7,6 <sup>ABCaD</sup> $\pm 0,69$	6,8 <sup>ABCEGH</sup> $\pm 0,42$	6,4 <sup>ABCEF</sup> $\pm 0,51$	5,8 <sup>ACFK</sup> $\pm 0,63$	5,5 <sup>ADHLPQ</sup> $\pm 0,52$
	Vakuum+ 0,3% EUT	8,6 $\pm 0,52$	8,3 $\pm 0,48$	7,6 <sup>DF</sup> $\pm 0,69$	7,6 <sup>D<sub>b</sub>F</sup> $\pm 0,52$	6,7 <sup>BDGL</sup> $\pm 0,67$	6,2 <sup>BEIM</sup> $\pm 0,63$
	Vakuum+ 0,6% EUT	8,5 <sup>c</sup> $\pm 0,70$	8,4 <sup>a</sup> $\pm 0,52$	7,8 <sup>G</sup> $\pm 0,79$	7,7 <sup>acG</sup> $\pm 0,48$	6,7 <sup>EHM</sup> $\pm 0,68$	6,7 <sup>CFJNP</sup> $\pm 0,67$
	Vakuum+ 0,9% EUT	8,5 <sup>d</sup> $\pm 0,53$	8,5 <sup>D</sup> $\pm 0,53$	8,0 <sup>H</sup> $\pm 0,67$	7,9 <sup>H</sup> $\pm 0,57$	6,9 <sup>IN</sup> $\pm 0,57$	6,8 <sup>GKOQ</sup> $\pm 0,70$

## **6. DISKUSIJA**

### **6.1. Hemski sastav etarskih ulja**

Rod *Thymus* ima više od 300 vrsta pa tako i hemski sastav etarskog ulja zavisi i od vrste i podvrste timijana iz kojeg je ekstrahovano (Bolechowski i sar., 2015; Pavel i sar., 2010; Tepe i sar., 2005). Postoji više hemotipova timijana, karvakrol hemotip, timol hemotip, karvakrol/timol hemotip, linalol hemotip, geraniol hemotip, borneol hemotip i tujanol hemotip, koji se razlikuju u hemiskom sastavu pre svega glavnih komponenti (Pavel i sar., 2010; Tisserand i Young, 2013). Etarsko ulje korišćeno u ovom ogledu ekstrahovano je iz timol hemotipa timijana (*T. vulgaris*). Ispitivano etarsko ulje timijana sastoji se uglavnom od monoterpena od kojih su najzastupljeniji timol, *p*-cymene, linalol,  $\gamma$ -terpinen i 1,8-clineol, dok su druge hemiske komponente zastupljene u nižim koncentracijama. Etarsko ulje timijana se uglavnom sastoji od timola koji čini između 10-64% ukupnog sastava i *p*-cimen čija koncentracija varira od 10% do 56% (Burt, 2004). Hemski profil etarskog ulja timijana korišćenog u ovom eksperimentu odgovara profilu etarskog ulja koji je u svom ogledu koristio Pirbaloutl (2009). Etarsko ulje timijana sličnog sastava koristili su i Nikolić i sar. (2014). Etarsko ulje koje su korisili ekstrahovano je iz *T. vulgaris*, a predominantne komponente činili su timol (49,10%), i *p*-cymene (20,01%). Rezultati ogleda Tomaino i sar. (2005) pokazuju da su glavne komponente etarskog ulja timijana timol (45,3%), *p*-cymene (26,1%) i linalool (6,2%), što procentualno odgovara hemiskom sastavu etarskog ulja timijana korišćenog u ovom ogledu. Takođe, bitno je napomenuti da je za razliku od ulja korišćenih u navedenim studijama, u ovom ogledu korišćeno komercijalno etarsko ulje. U ogledu koji su sproveli Bagamboula i sar. (2004) nisu nađene značajne razlike u hemiskom sastavu komercijalnog etarskog ulja timijana i etarskog ulja iz sitno usitnjeno lišća timijana ekstrahovanog destilacijom vodenom parom. Koncentracija timola u ovim uljima varirala je od 45-47%, a *p*-cymen od 32-34%, što je slično koncentracijama ovih komponenata u etarskom ulja timijana korišćenog u ovom ogledu. Timol (29,4%), *p*-cymene (21,6%) i 1,8-cineol (9,8%) bile su najzastupljenije komponente i komercijalnog etarskog ulja timijana koji su u svom eksperimentu koristili Nowak i sar. (2012). Sadržaj karvakrola u etarskom ulju timijana korišćenog u ovom ogledu bio je nizak (1,18%), mada su rezultati nekih studija pokazale da se ovaj fenol može naći i u višim procentima (7,6% i 5,7%) u etarskom ulju timijana (Lee i sar., 2005; Rouatbi i sar., 2007).

Za razliku od hemijskog ulja timijana, karvakrol je bio najzastupljenije jedinjenje u ispitivanom etarskom ulju origana. Karavakrol je činio 77,6% sastava etarskog ulja origana, nakon koga su najzastupljeniji bili *p*-cymene (5,14%), *trans*- $\beta$ -kariofilen (2,45%), linalol (2,44%),  $\gamma$ -terpinen (2,35%) i timol (2,11%), dok su ostala jedinjenja bila zastupljena u manjem procentu (ispod 2%). Glavna komponenta etarskog ulja origana koje su u svom ogledu koristili Govaris i sar. (2010) bila je karvakrol (80,15%), a u manjem procentu bili su zastupljeni *p*-cymene (5,18%), timol (4,82%) i  $\gamma$ -terpinen (0,77%). Hemijski sastav ovog ulja sličan je hemijskom sastavu etarskog ulja origana korišćenog u ovom ogledu.

Kao što je već pomenuto, hemijski sastav etarskih ulja zavisi od velikog broja, pre svega klimatskih faktora, geografskog područja na kome se biljke uzgajaju, ali i osobina i sastava zemljišta, đubrenja, navodnjavanja, gustine zasađenosti biljaka, vegetativnog ciklusa biljke kao i vremena branja (Tepe i sar., 2005; Figueiredo i sar., 2008; Gómez-Estaca i sar., 2010; Govaris i sar., 2010; Bolechowski i sar., 2015). Razlike u hemijskom sastavu etarskih ulja korišćenih u različitim istraživanjima mogu se objasniti kombinacijom dejstva ovih faktora ili različitim intenzitetom njihovog delovanja. Tako količina karvakrola u etarskom ulju origana može varirati od toga da čini do 80% etarskog ulja to toga da se može naći samo u tragovima (Burt, 2004; Govaris i sar., 2010). Etarsko ulje origana koje su u svom ogledu ispitivali Martucci i sar. (2015) sadržalo je skoro tri puta manju koncentraciju karvakrola (26,70%) od etarskog ulja origana korišćenog u ovom ogledu. De Falco i sar. (2014) su ispitivali tri biotipa *Origanum vulgare* i došli do rezultata da količina karvakrola ne varira samo između biotipova, već i u okviru istog biotipa u zavisnosti od vegetativnog stadijuma biljke. U njihovom ogledu najveću koncentraciju karvakrola (70,1%) sadržale su biljke u fazi cvetanja dok se koncentracija ukupnih fenolnih jedinjenja kretala 76,1%. Prema podacima iz specifikacije proizvođača etarsko ulje timijana i origana korišćenih u ovoj studiji, ekstrahovana su iz biljaka koje su brane tokom perioda cvetanja, čime se može objasniti visoka koncentracija fenolnih komponenti.

Ipak hemijski sastav etarskih ulja ne zavisi samo od uslova sredine i načina uzgoja ili vremena branja biljke, već i od procesa ekstrakcije etarskog ulja, ali i načina skladištenja. Rowshana i sar. (2013) su ispitivali promenu sastava etarskog ulja ekstrahovanog iz *Thymus daenensis* tokom tri meseca skladištenja u različitim temperaturnim uslovima (sobna temperatura, temperatura frižidera i temperatura zamrzavanja na -20 °C). Rezultati ispitivanja su pokazali da se tokom skladištenja povećava količina karvakrola i timola u etarskom ulju, dok se količina njihovih perkursora *p*-cimen-a i  $\gamma$ -terpinen-a smanjuje. Ova promena u hemijskom sastavu se objašnjava time da  $\gamma$ -terpinen aromatizacijom može da pređe u p-

cymene, koji se potom u procesu hidroksilacije transformiše u karvakrol ili timol (Dewick, 2002). Moguće je da su delom ove hemijske reakcije uticale na visok sadržaj timola i karvakrola u etarskim uljima origana i timijana korišćenih u ogledu u okviru ove doktorske disertacije.

## 6.2. Antioksidativna aktivnost etarskih ulja

Ne postoji standardni metod za određivanje antioksidativne aktivnosti etarskog ulja, zbog čega se u cilju stvaranja kompletног profila antioksidativnog kapaciteta biljnih ekstrakata koristi više različitih testova. Da bi se utvrdio antioksidativni potencijal etarskih ulja korišćenih u ovoj studiji korišćeni su testovi zasnovani na transferu elektrona (DPPH test, FRAP test), sposobnosti „hvatanja“ slobodnih radikala ('OH i NO') i inhibiciji lipidne peroksidacije (LP).

Antioksidativna aktivnost etarskih ulja je u pozitivnoj korelaciji sa sadržajem fenola, naročito oksidovanih monoterpena timola i karvakrola (Ruberto i Baratta, 2000; Tepe i sar., 2005; Biskup i sar., 2013). Fenolne komponente se vezuju za metalne jone (npr. gvožđa i bakra) i na taj način sprečavaju njihovo učestvovanje u Fentonovoj reakciji (Halliwell i Gutteridge, 1990; Biskup i sar., 2013).

DPPH test je visoko osetljiv i jednostavno primenljiv zbog čega predstavlja jedan od najčešće korišćenih testova za određivanje antioksidativne aktivnosti etarskih ulja (Miguel, 2010).

Fenolne komponente poput timola i karvakrola u svojoj strukturi imaju hidroksilnu grupu koja se ponaša kao donor vodonikovog atoma. Vezivanjem atoma vodonika za slobodne radikale sprečava se reakcija slobodnih radikala sa drugim jedinjenjima i njihova oksidacija (Tongnuanchan i Benjakul, 2014). Više od 50% hemijskog sastava etarskog ulja timijana korišćenog u ovom ogledu čini timol, a više od 75% etarskog ulja origana čini karvakrol čime se mogu objasniti njihova izražena antioksidativna aktivnost. Jukić i Miloš (2005) su našli da etarsko ulje ekstrahovano iz fenolnog hemotipa *T. vulgaris* poseduje bolju antioksidativnu aktivnost od etarskog ulja ekstrahovanog iz nefenolnog hemotipa. Rezultati studije koju su sproveli Nikolić i sar. (2014) na etarskim uljima timijana ekstrahovanih iz različitih vrsta biljaka iz roda *Thymus*, pokazali su da je etarsko ulje ekstrahovano iz *T. vulgaris* ( $EC_{50}$ : 4,80  $\mu\text{g/mL}$ ) imalo slabiju sposobnost vezivanja slobodnih radikala u poređenju sa etarskim uljima ekstrahovanim iz *T. serpyllum* ( $EC_{50}$ : 0,96  $\mu\text{g/mL}$ ) i *T. algeriensis* ( $EC_{50}$ : 1,64  $\mu\text{g/mL}$ ). Suprotno navedenim rezultatima, etarsko ulje timijana korišćeno u ovoj studiji ekstrahovano iz *T. vulgaris* pokazuje visoku sposobnost vezivanja slobodnih radikala

( $IC_{50}$ :0,48 µg/mL) iako je imalo manju koncentraciju timola (49,1%) u poređenju sa etarskim uljem timijana koje su koristili Nikolić i sar. (50,48%).

Etarsko ulje origana u korišćeno u ogledu ove doktorske disertacije imalo je bolju sposobnost vezivanja slobodnih radikala od etarskog ulja timijana ( $IC_{50}$ :0,33 µg/mL). Kulisić i sar. (2004) ispitivali su antioksidativni kapacitet etarskog ulja origana i rezultati njihovog istraživanja pokazala su da je etarsko ulje korišćeno u nihovom ogledu imalo slabiju sposobnost vezivanja slobodnih radikala ( $IC_{50}$ :0,50 µg/mL) u poređenju sa etarskim uljem korišćenom u ogledu ove doktorske disertacije. Etarsko ulje origana korišćeno u nihovom ogledu sadržalo je 35% timola i 32% karvakrola. Ipak, sposobnost vezivanja radikala ne može se pripisati samo jednoj komponenti ili najzastupljenijim komponentama etarskog ulja, već je antioksidativna sposobnost etarskog ulja posledica sinergističkog dejstva glavnih komponenti etarskog ulja kao i onih zastupljenih u nižim koncentracijama (Yunes i sar., 2009). Rezultati nekih studija pokazuju da manje zastupljene komponente, monoterpenski ugljovodonici  $\gamma$ -terpinen i  $\alpha$ -terpinen, koji su prisutni i u ispitivanim etarskim uljima timijana i origana, poseduju antioksidativnu aktivnost (Ruberto i Baratta, 2000; Jia i sar., 2010). Ove komponente doprinose antioksidativnoj aktivnosti etarskih ulja, zbog prisustva visoko aktivnih metil (metilen) grupa (Ruberto i Baratta, 2000; Beatović i sar., 2015). Jia i sar. (2010) naglašavaju ulogu *p*-cymene u antioksidativnoj aktivnosti etarskih ulja, a ovo hemijsko jedinjenje je bila druga komponenta po zastupljenosti u etarskom ulju timijana i origana korišćenog u ovom ogledu.

Izbor rastvarača koji se koristi za ekstrakciju etarskog ulja utiče na sposobnost neutralizacije slobodnih radikala. Roby i sar. (2013) ispitivali su sposobnost neutralizacije DPPH radikala etarskog ulja timijana, žalfije i majorana, ekstrakovanih metanolom, etanolom, dietil etrom i heksanom. Rezultati istraživanja pokazali su da etarska ulja za čiju ekstrakciju su korišćeni polarniji rastvarači imaju bolju sposobnost neutralizacije radikala. Metanol je pokazao najbolje karakteristike, međutim, nije bilo značajnijih razlika ni kada je kao rastvarač korišćen etanol, koji je pogodniji za upotrebu u prehrambenoj industriji. U istom ogledu etarsko ulje timijana imalo je izraženiji antioksidativni potencijal u poređenju sa drugim ispitivanim uljima, bez obzira na rastvarač koji je korišćen za ekstrakciju. Kao rastvarač za ekstrakciju etarskih ulja timijana i origana u ovoj studiji korišćen je etanol.

U testu neutralizacije hidoksil radikala etarsko ulje timijana nije dostiglo  $IC_{50}$  vrednost u ispitivanom opsegu koncentracija. Pri većim koncentracijama nije bilo moguće raditi zbog nepolarne prirode etarskog ulja, odnosno nerastvorljivosti uzorka u korišćenom puferskom sistemu. Božin i sar. (2006) poredili su antioksidativnu aktivnost etarskih ulja

*Ocimum basilicum*, *Origanum vulgare*, i *Thymus vulgaris*. U pomenutoj studiji, nijedno od ispistivanih etarskih ulja nije postiglo IC<sub>50</sub> vrednost, što je u skladu sa rezultatima ovog ogleda, ali od ispitičnih ulja etarsko ulje timijana je ispoljilo najveću sposobnost neutralizacije hidroksilnih radikala.

Rezultati pokazuju da ispitanata etarska ulja utiču na sprečavanje slobodnoradikalnih procesa zasnovanih na transferu elektrona, neutralizaciji slobodnoradikalnih vrsta ili da inhibiraju lipidnu peroksidaciju.

### **6.3. Antibakterijska aktivnost etarskih ulja**

Eatarska ulja su kompleksnog sastava i sastavljena su iz velikog broja hemijskih komponenti zbog čega je antimikrobna aktivnost etarskih ulja uslovljena pre svega hemijskim sastavom a antibakterijsko dejstvo se zasniva na više različitih mehanizama (Burt, 2004). Zbog liposolubilnog karaktera etarska ulja interaguju sa lipidima ćelijske membrane bakterija i povećavaju njenu permeabilnost, izazivaju kolaps protonske pumpe, dovode do gubitka jona i ATP-a, izlaska makromolekula, što posledično može dovesti do lize ćelije (Burt, 2004; Bakkali i sar., 2008; Turgis i sar., 2012). Akumulacijom u citoplazmi, etarska ulja mogu da oštete lipide i proteine unutar ćelije (Bakkali i sar., 2008). Rezultati ispitanja pokazuju da su Gram- negativne bakterije manje osetljive na dejstvo etarskih ulja od Gram-pozitivnih bakterija, verovatno zbog složenosti građe ćeliskog zida i spoljašnje membrane koja sadrži lipoplisaharide zbog kojih hidrofobna etarska ulja slabije difunduju (Vaara, 1992; Hyldgaard i sar., 2012).

Iako se etarska ulja i njihova potencijalna upotreba kao antimikrobnih supstanci dugo i detaljno proučava, ne postoji standardizovana metoda kojom se određuje njihova antimikrobna aktivnost. Najveći broj istraživača koristi minimalnu inhibitornu koncentraciju kao meru antimikrobne aktivnosti etarskih ulja. Na rezultate minimalnih inhibitornih koncentracija utiče veliki broj faktora poput metode ekstrakcije etarskog ulja, zapremine inokuluma, faze rasta bakterijske kulture, medijuma koji se koristi i izbora razređivača za etarska ulja, zbog čega je teško poređiti rezultate ispitanja (Burt, 2004).

Prema podacima iz dostupne literature minimalne inhibitorne koncentracije potrebne za inhibiciju *S. Typhimurium* varira u opsegu 0,45–720 µl/ml za etarsko ulje timijana i 0,12–3,12 µl/ml za etarsko ulje origana, dok je za inhibiciju *S. Enteritidis* potrebno 66,7–320 µg/ml etarskog ulja timijana i 66,7–160 µg/ml etarskog ulja origana (Bajpai i sar., 2012). Rezultati minimalne inhibitorne koncentracije etarskih ulja ove doktorske disertacije su u opsegu

prijavljenih vrednosti. Bilo je neophodno 320 µg/ml etarskog ulja timijana i 320 µg/ml etarskog ulja origana za inhibiciju *S. Enteritidis*, dok je za inhibiciju *S. Typhimurium* bilo potrebno 320 µg/ml etarskog ulja timijana i 160 µg/ml etarskog ulja origana. Rezultati istraživanja koja su sproveli Mazzarrino i sar. (2015) pokazali su da osetljivost *Salmonella* spp. na etarska ulja ne zavisi samo od vrste i hemijskog sastava etarskog ulja već i od osetljivosti serotipova bakterija u okviru iste vrste. *S. Montevideo*, *S. Senftenberg*, *S. Infantis* i *S. Givae* pokazala su jednaku osetljivost prema ispitanim etarskim uljima i aktivnim komponentama. Slično su prijavili i Lu i Wu (2010) koji našli razliku u osetljivosti četiri serovarijeteta *Salmonella* (*S. Kentucky*, *S. Senftenberg*, *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium*) na dejstvo etarskog ulje timijana, timola i karvakrola. Ipak u ogledu u okviru ove doktorske disertacije uočene su razlike u osetljivost *S. Typhimurium* i *S. Enteritidis*. U poređenju sa drugim serovarijetetima *S. Typhimurium* je bila osetljivija na dejstvo etarskog ulja origana i timijana, eugenola, a manje osetljiva na dejstvo timola i karvakrola. Najmanje osetljiva od svih testiranih bakterija bila je *S. Enteritidis* i u odnosu na druge serovarijetete *Salmonella* bila osetljivija na dejstvo etarskog ulja timijana, timola, eugenola i cinamaldehida. Smatra se da etarska ulja ekstrahovana iz delova biljke tokom ili odmah nakon perioda cvetanja poseduju najjaču antibakterijsku aktivnost (Burt, 2004). U specifikaciji proizvođača navodi se da su etarska ulja korišćena u ovom ogledu ekstrahovana tokom perioda cvetanja čime se može objasniti izražen antibakterijski efekat ovih ulja.

Antimikrobne osobine etarskih ulja se pripisuju sadržaju fenolnih komponenti pre svega karvakrola, timola i eugenola, a naročito se ističe značaj prisustva hidroksilnih grupa (Dorman i Deans, 2000; Juliano i sar., 2000; Lambert i sar., 2001; Ultee i sar., 2002; Burt, 2004). Timol ima sličnu strukturu kao karvakrol, jedino ih razlikuje položaj hidroksilne grupe na fenolnom prstenu. Mehanizam dejstva ovih supstanci zasniva se na interakciji sa čelijskom membranom i promenom njene permeabilnosti za ATP (Lambert i sar., 2001). Rezultati ispitivanja pokazuju da karvakrol deluje i na membranski potencijal. U prisustvu karvakrola membrana bakterijske ćelije postaje tečnija. Ispitivanja uticaja karvakrola na *B. cereus* pokazuju da prisustvo ovog fenolnog jedinjenja dovodi do pada nivoa ATP-a unutar ćelije, bez njegovog proporcionalnog rasta izvan ćelije, što ukazuje da karvakrol smanjuje sintezu ATP-a ili povećava njegovu hidrolizu. Merenjem membranskog potencijala uočava se njegov pad kao i slabljenje protonskog gradijenta (Ultee i sar., 1999; Ultee i sar., 2000a). Rezultati istraživanja interakcije timola sa *S. Typhimurium* i *S. aureus* su pokazala da se timol vezuje za hidrofobne domene proteina čelijske membrane vodoničnim vezama i na taj način menja permeabilnost membrane (Juven i sar., 1994).

Rezultati ove doktorske disertacije pokazuju da su karvakrol i timol ispoljili jače antimikrobno dejstvo od eugenola i cinamaldehida i delovali inhibitirno na sve serovarijetete *Salmonella* u koncentracijama od 320 µg/ml, sem na *S. Enteritidis* za čiju inhibiciju je bila potrebna niža koncentracija timola (160 µg/ml).

Egarska ulja korišćena u ovom ogledu pokazala su značajan antimikrobni efekat što se može pripisati visokom sadržaju fenolnih komponenti. Etarsko ulje timijana ispoljilo je slabiji antimikrobni efekat od etarskog ulja origana što se može pripisati višoj koncentraciji fenola u etarskom ulju origana. Karvakrol koji je bio najzastupljenija komponenta ispitivanog etarskog ulja origana (77,16%) imao je isti antimikrobni efekat kao etarsko ulje, uz napomenu da je etarsko ulje origana pokazalo jaču antibakterijsku aktivnost prema *S. Typhimurium*. Bolji antibakterijski efekat etarskog ulja origana u poređenju sa aktivnom supstancom se može obajniti sinergističkim efektom pojedinih komponenti koje su zastupljene u nižim koncentracijama (Gill i sar., 2002; Mourey i Canillac, 2002). Istraživanja ukazuju na postojanje sinergističkog efekta karvakrola i njegovog prekursora p-cimen, druge po zastupljenosti (5,14%) komponente ispitivanog etarskog ulja origana. Samra se da p-cimen olakšava ulazak karvakrola u ćeliju (Ultee i sar., 2000a). Opisan je i aditivni efekat karvakrola i timola, koji je bio jedan od najzastupljenijih jedinjenja u etarskom ulju origana (Lambert i sar., 2001). Suprotno opisanom, timol koji je bio najzastupljenija supstanca ispitivanog etarskog ulja timijana imao je jače antimikrobno dejstvo od etarskog ulja timijana, sem na *S. Typhimurium* za čiju inhibiciju je bila potreban ista koncentracija etarskog ulja timijana i timola. Iako fenolna komponenta, eugenol je ispoljio najslabiji inhibitorni efekat od svih ispitivanih supstanci (MIC 1280 µg/ml), a najosetljiviji serovarijeteti bili su *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* za čiju inhibiciju je bilo potrebno 640 µg/ml ove supstance.

Osim fenolnih komponenti i aldehydi poseduju izražen antimikrobni efekat koji doprinosi ukupnom antimikrobnom dejstvu etarskih ulja (Bassolé i Juliani, 2012). Mehanizam dejstva cinamaldehida, najzastupljenije komponente etarskog ulja cimeta, još uvek nije u potpunosti razjašnjen. U zavisnosti od primenjene koncentracije cimanaldehid inhibira enzime koji učestvuju u citokinezi, deluje kao inhibitor ATP-aze i utiče na integritet i funkciju ćelijske membrane (Hyldgaard i sar., 2012; Shen i sar., 2015). U ogledu u okviru ove doktorske disertacije cinamaldehid je ispoljio umerenu antibakterijsku aktivnost i koncentracija koja je bila potrebna za inhibiciju ispitivanih *Salmonella* spp. bila je 640 µg/ml, sem za *S. Enteritidis* za koju je bilo potrebna niža koncentracija (320 µg/ml). Minimalna inhibitorna koncentracija potrebna za inhibiciju *S. Typhimurium*, bila je ista za timol, karvakrol i cinamaldehid što je u

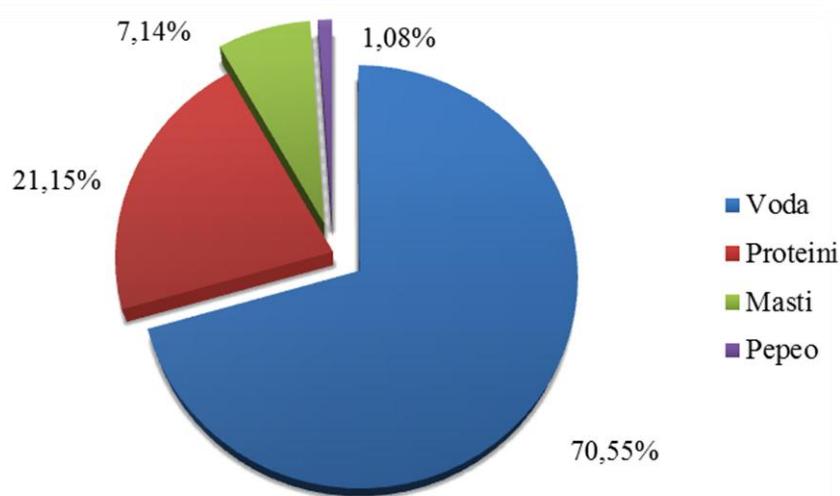
suprotnosti sa rezultatima Zhou i sar. (2007) koji su prijavili da je cinamaldehid imao jače antimikrobno dejstvo od timola i karvakrola. Na ostale ispitivane serovarijetete timol i karvakrol su ispoljili jače inhibitorno dejstvo od cinamaldehida.

Kao pozitivna kontrola korišćen je amikacin i kao što je očekivano ispoljio je jači antibakterijski efekat od etarskih ulja i aktivnih principa.

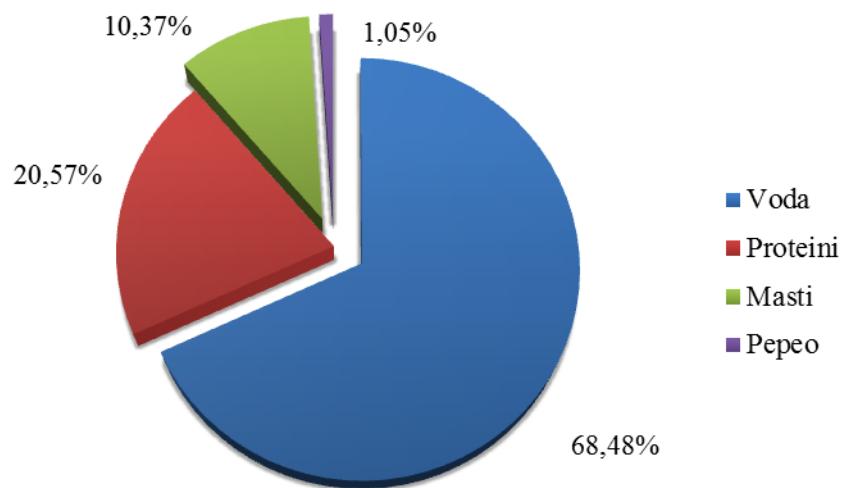
Mehanizam dejstva amikacina se razlikuje od načina delovanja etarskih ulja i dok etarska ulja uglavnom deluju na ćelijsku membranu, amikacin se vezuje za rRNK i na taj način inhibira sintezu proteina (López-Díez i sar., 2005).

#### 6.4. Hemijski sastav mesa

Hemijski sastav mesa nije konstantan i uslovljen je velikim brojem faktora, između ostalog vrstom, rasom, polom i starošću životinje, načinom ishrane, stepenom uhranjenosti i dela trupa (Ivanović i sar., 2012; Wyness i sar., 2011). Prema podacima iz različitih zemalja sastav svežeg svinjskog mesa nije uniforman i u 100g mesa sadržaj proteina varira od 20 do 23,5 g, a sadržaj masti od 1,7 do 12 g (Wyness i sar., 2011). Sirovo mleveno meso korišćeno u ovom ogledu sadržalo je 20,57-21,15% proteina i 7,14-10,37% masti, što je u skladu sa prijavljenim podacima. Ovako usitnjeno meso buta u skladu sa Pravilnikom o kvalitetu usitnjjenog mesa, poluproizvoda od mesa i proizvoda od mesa (Sl. glasnik RS, 94/2015) može da se klasificuje kao usitnjeno meso prve kategorije, koje treba da sadrži minimum 18% proteina. Ipak s obzirom na to da su u ovo usitnjeno meso dodata etarska ulja koja spadaju u ekstrakte začina origana i timijana meso korišćeno u ovom ogledu moglo bi biti kategorisano kao poluproizvod od mesa.



**Grafikon 1.** Hemijski sastav mesa korišćenog u prvom delu ogleda



**Grafikon 2.** Hemijski sastav mesa korišćenog u drugom delu ogleda

## **6.5. Broj bakterija**

### **6.5.1. Broj *Salmonella* spp. u mlevenom mesu**

Prosečan broj *Salmonella* spp. na početku skladištenja bio je 6,16-6,22 log cfu/g u prvom delu ogleda i 6,26-6,40 log cfu/g u drugom delu ogleda.

Tokom skladištenja prosečan broj *Salmonella* spp. je opadao u svim uzorcima, sa i bez dodatka etarskih ulja, pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu (grafikon 3 i grafikon 4). Pad prosečnog broja bakterija *Salmonella* spp. bez obzira na uslove pakovanja i primjenjen tretman može se pripisati skladištenju uzoraka na temperaturama ispod 5 °C (Wong i sar., 2002). Tokom skladištenja na niskim temperaturama bakterijske ćelije su izložene stresu odnosno hladnom šoku. Kada se nalaze u sredini čija je temperatura ispod temperature optimalne za njihov rast, bakterije pokušavaju da se adaptiraju na temperaturne uslove i dolazi do promena u sintezi proteina, ćelijskoj membrani, kao i promena u drugim ćelijskim strukturama (Panoff i sar. 1998; Rowbury, 2003; Wilson i Nierhaus 2004). Na temperaturi od 4 °C ne dolazi do rasta bakterija, ali se dešavaju promene u ekspresiji gena i sintetišu se proteini šoka (McCann i sar., 2006; Scherer i Neuhaus 2006). Izloženost niskim temperaturama dovodi do produžavanja lag faze, smanjenog razmnožavanja i nekada odumiranja bakterijske ćelije (Cahill, 2002). Iako rezultati velikog broja ispitivanja pokazuju da se broj *Salmonella* spp. smanjuje tokom skladištenja na niskim temperaturama (Cosansu i Ayhan, 2012; Sharma i sar., 2012; Oscar, 2014), postoje podaci u literaturi koji potvrđuju da *Salmonella* spp. mogu da rastu na temperaturama ispod 5 °C (Cahill, 2002; D'Aoust, 1991; Hayouni i sar., 2008), čime se može objasniti blagi porast prosečnog broja *Salmonella* spp. u određenim uzorcima petnaestog dana skladištenja. Rezultati ispitivanja koje su sproveli Sawaya i sar. (1995) pokazali su rast enterobakterija, uključujući *Salmonella* spp. u pilećem mesu nakon tri dana skladištenja na 2 °C u modifikovanoj atmosferi sa 30% CO<sub>2</sub>, odnosno nakon pet dana skladištenja u modifikovanoj atmosferi sa 70% CO<sub>2</sub>. Slično, Shin i sar. (2010) su zabeležili rast *S. Typhimurium* u mesu grudi brojlera sa inicijalnih 3,2 log cfu/g do 6 log cfu/g tokom desetodnevног skladištenja na temperaturi od 4 °C. Nychas i Tassou (1996) su prijavili da se broj *S. Enteritidis* na pilećim grudima tokom dvanaestodnevног skladištenja na temperaturi od 3 °C u različitim uslovima modifikovane atmosfere nije menjao. Čak iako *Salmonella* spp. ne rastu na niskim temperaturama imaju sposobnost da prežive nepovoljne uslove i na taj način i dalje predstavljaju opasnost po zdravlje (Skandamis i sar., 2002).

Osim temperature, fizička metoda koja se koristi u cilju prezervacije, inhibicije i redukcije broja patogenih bakterija u mesu je pakovanje mesa u modifikovanu atmosferu.

Iako su u ogledu u okviru ove doktorske disertacije najveće razlike u broju *Salmonella* spp. uočene između uzoraka u koje je dodato etarsko ulje i uzoraka bez etarskog ulja timijana, rezultati pokazuju da su postojale i statistički značajne razlike između načina pakovanja uzoraka. Generalno, bez obzira na dodatu koncentraciju etarskog ulja broj *Salmonella* spp. bio je manji u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu nego uzorcima pakovanim u vakuum. Na kraju skladištenja u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja broj *Salmonella* spp. bio je statistički značajno manji ( $P<0,05$ ) od broja ovih bakterija u uzorcima bez dodatka etarskog ulja pakovanim u vakuum.

Ovakvi rezultati se pre svega mogu pripisati inhibitornom delovanju ugljen-dioksida, zbog čega se ovaj gas i dodaje u modifikovanu atmosferu (Chen i sar., 2012). Literaturni podaci govore u prilog tome da su Gram-negativne bakterije u koje spadaju i *Salmonella* spp., osjetljivije na dejstvo ugljen-dioksida od Gram-pozitivnih bakterija (McMillin i sar., 2008; Cooksey, 2014). Mehanizam delovanja ugljen-dioksida zasniva se na njegovoj penetraciji kroz zid bakterijske ćelije, brzom snižavanju pH vrednosti unutar ćelije koje remeti metabolizam, kao i inhibiciji ili smanjenju enzimske aktivnosti u bakterijskoj ćeliji. Ugljen-dioksid je visoko rastvorljiv u sredinama sa visokim sadržajem vode i masti poput mesa (Cooksey, 2014). Do sličnih rezultata došla je i Lončina (2014), čiji rezultati pokazuju da je inicijalni broj *Salmonella* spp. (8,77 log cfu/g) u uzorcima mešanog govedđeg i svinjskog mlevenog mesa tokom 12 dana skladištenja na temperaturi od 4 °C opao za 1,34 log cfu/g u uzorcima pakovanim u vakuum, za 1,84 log cfu/g u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa 20% O<sub>2</sub>, 50% CO<sub>2</sub> i 30% N<sub>2</sub> i za 1,59 log cfu/g u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa 20% O<sub>2</sub>, 30% CO<sub>2</sub> i 50% N<sub>2</sub>. U uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa različitim smešama gasova nisu utvrđene statistički značajne razlike, dok je broj *Salmonella* spp. na kraju perioda skladištenja bio statistički značajno veći u uzorcima pakovanim u vakuum u poređenju sa uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu. Ovi rezultati naglašavaju značaj upotrebe ugljen-dioksida u cilju inhibicije *Salmonella* spp. Rezultati eksperimenta koji su sproveli Hulánková i sar. (2010) su takođe pokazali da modifikovana atmosfera sa višom koncentracijom ugljen-dioksida (30% CO<sub>2</sub>/70% N<sub>2</sub>) ima inhibitorni efekat na *Salmonella* spp. i broj ovih bakterija u pilećim batacima skladištenim na 3 °C tokom 14 dana opao je u poređenju sa inicijalnom koncentracijom od 4, odnosno 1,5 log cfu/g, dok se u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa nižom koncentracijom ugljen-dioksida (20% CO<sub>2</sub>/80% O<sub>2</sub>) nije značajno menjao tokom skladištenja. Michaelsen i sar. (2006) nisu zabeležili veliku razliku između broja *Salmonella* spp. u uzorcima krmenadli pakovanim u vakuum i modifikovanoj atmosferi sa 99,5 -100%

$\text{CO}_2$  skladištenim pri temperaturama od 4 °C. U istraživanju koje su sproveli Skandamis i sar. (2002), broj *S. Typhimurium* (3,69 log CFU/g) u goveđim filetima skladištenih aerobno, u modifikovanu atmosferu (40% $\text{CO}_2$ /30% $\text{O}_2$ /30%N) i vakuumu u pakovanju sa visokom i niskom propoustljivosti za gasove, tokom petnaest dana na temperaturi od 5 °C nije rastao, sem u uzorcima pakovanim aerobno (4,01 log CFU/g), dok se u uzorcima pakovanim u MAP i vakuum sa visokom propustljivošću za gasove nije menjao (3,65 log cfu/g, 3,69 log cfu/g), a u uzorcima pakovanim u MAP i vakuum sa niskom propustljivošću za gasove opao (3,34 log cfu/g, 2,90 log cfu/g).

Suprotno rezultatima ove doktorske disertacije Nissen i sar. (2000) nisu prijavili inhibitorni efekat ugljen-dioksida dodatog u visokim koncentracijama. Oni su ispitivali efekat temperature i načina pakovanja na preživljavanje *Salmonella* spp. (*S. Typhimurium*, *S. dublin*, *S. Enteritidis* i *S. enterica* 61:k:1,5,(7)) u mlevenom goveđem mesu. Na temperaturi od 10 °C broj *Salmonella* spp. bio je viši u pakovanjima sa visokom koncentracijom ugljen-dioksida (60%  $\text{CO}_2$ /40% $\text{N}_2$ /0,4% CO) nego u pakovanjima sa visokom koncentracijom kiseonika (70%  $\text{O}_2$ /30%  $\text{CO}_2$ ), što se pripisuje oksidativnom stresu kome su bakterije bile izložene. Razlike u rezultatima mogu se objasniti time što su u ogledu u okviru ove doktorske disertacije uzorci mesa bili skladišteni na temperaturi od 3 °C, a rastvorljivost ugljen-dioksida raste sa sniženjem temperature (Cooksey, 2014), u čemu se i ogleda sinergistički efekat.

Iako se skladištenje mesa na temperaturama frižidera u modifikovanoj atmosferi pokazalo kao efikasan metod u redukciji broja *Salmonella* spp., ovaj patogen zadržava mogućnost preživljavanja u ovakvim uslovima predstavljajući i dalje rizik po zdravlje (Skandamis i sar., 2002). Zbog pomenutog u cilju maksimalne redukcije ili eliminacije ove patogene bakterije poželjno je kombinovati modifikovanu atmosferu sa drugim fizičkim (npr. visok pritisak, zračenje) ili hemijskim metodama (kiseline, etarska ulja).

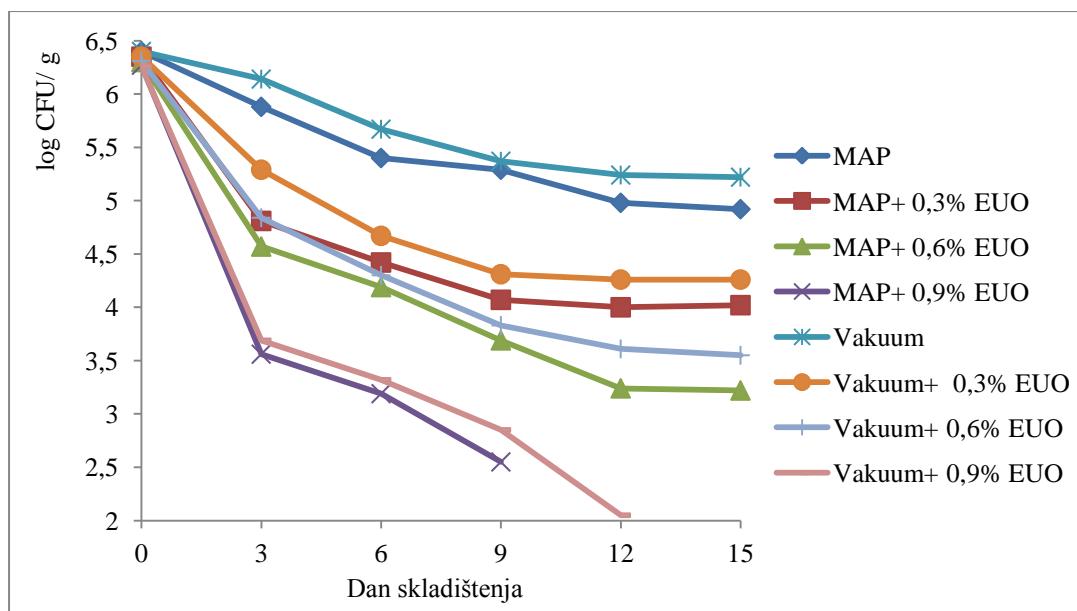
Brojna istraživanja pokazuju da je za ostvarivanje antibakterijskog efekta (bakteriostatskog ili baktericidnog) etarskih ulja u hrani potrebna i deset puta veća koncentracija etarskih ulja od one određene u laboratorijskom medijumu in vitro kao MIK ili MBK (Shelef i sar., 1984). Hayouni i sar 2008; de Oliveira i sar., 2013). Razlog ovome je interakcija etarskih ulja, ali i bakterija sa komponentama hrane (Hayouni i sar 2008; Burt, 2004). Proteini vezuju fenolne komponente, dok se etarska ulja zbog svoje hidrofobne prirode rastvaraju u lipidnoj frakciji, čime postaju manje dostupna za interakciju sa bakterijama (Hayouni i sar., 2008). S druge strane masti iz hrane formiraju protektivni sloj oko bakterijske ćelije i na taj način je štite od dejstva antimikrobnih sredstava (Cutter, 2000). Rezultati istraživanja pokazuju da se rast *Salmonella* spp. može kontrolisati u mesu dodavanjem različitih etarskih ulja u različitim

koncentracijama. Hayouni i sar. (2008) su istraživali efekat etarskog ulja *Salvia officinalis* i etarskog ulja *Schinus molle* u koncentracijama 0,02%, 0,06% 0,1%, 1%, 1,5%, 2% i 3% na *S. anatum* i *S. Enteritidis* dodatih u koncentraciji od 3 log cfu/g, u mlevenom goveđem mesu skladištenom tokom petnaest dana na temperaturi između 4 i 7 °C. Rezultati ispitivanja pokazali su da je etarsko ulje *S. officinalis* pokazalo jaču antimikrobnu aktivnost i na *S. anatum* i *S. Enteritidis*. Dodato u nižim koncentracijama pokazalo je bakteriostatsku aktivnost i suprimiralo rast *S. anatum* tokom skladištenja. Primenjeno u koncentraciji od 1% etarsko ulje je uticalo na smanjenje broja *Salmonella* spp.. nakon tri dana skladištenja za 1,2 log CFU/g, dok su više koncentracije etarskog ulja (1,5%, 2% i 3%) ispoljile letalni, odnosno baktericidni efekat i trećeg dana skladištenja redukovali broj *S. anatum* za 2,1 log cfu/g, 2,6 log cfu/g i 2,8 log cfu/g, a nakon devetog dana skladištenja prijavljen je potpuni nestanak *S. anatum*. Trećeg dana skladištenja u mesu u koje je dodato etarsko ulje *S. molle* u koncentracijama 2% i 3% zapaženo je smanjenje broja *S. anatum* za 1 log cfu/g, odnosno 2,1 log cfu/g. Etarsko ulje *S. officinalis* redukovalo je *S. Enteritidis* u zavisnosti od dodate koncentracije između 0,8 log cfu/g (1,5%) i 2,6 log cfu/g (3%), trećeg dana skladištenja, dok je etarsko ulje dodato u tri najviše koncentracije do devetog dana skladištenja redukovalo broj *S. Enteritidis* za 2,8 log cfu/g. Etarsko ulje *S. molle* dodato u višim koncentracijama redukovalo je broj *S. Enteritidis* između 1,5 i 2 log cfu/g do trećeg dana skladištenja, dok se devetog dana skladištenja broj *S. Enteritidis* smanjio za 2 log cfu/g u uzorcima u koje je etarsko ulje dodato u koncentraciji 1,5% i za 2,9 log cfu/g u uzorcima u koje je etarsko ulje dodato u koncentracijama od 2 i 3%.

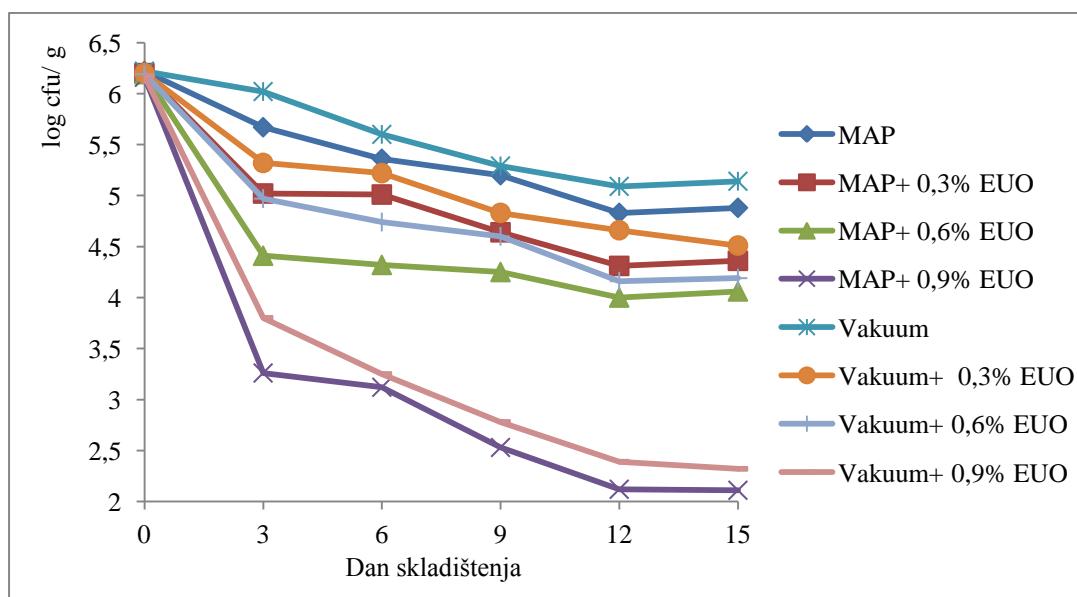
Iako dobro ispitivano u *in vitro* sistemima efekat etarskog ulja timijana na *Salmonella* spp. u mesu do sada nije zabeležen u dostupnoj literaturi. Rezultati ogleda ove doktorske disertacije pokazuju da je etarsko ulje timijana, kao i etarsko ulje origana, aplikovano u sve tri koncentracije, ispoljilo antimikrobni efekat. Inicijalna redukcija broja *Salmonella* spp. nultog dana skladištenja zabeležena je u uzorcima u koje je dodato etarsko ulje timijana i u uzorcima u koje je dodato etarsko ulje origana, što ukazuje na brzo dejstvo etarskih ulja i njihovu trenutnu interakciju sa bakterijskim ćelijama, što su u svojim rezultatima prijavili i de Oliveira i sar. (2013) i Hayouni i sar. (2008). Isti autori su prijavili i trend opadanja broja *Salmonella* spp. što je zabeleženo i u rezultatima ogleda ove doktorske disertacije. I dok je pad broja *Salmonella* tokom perioda skladištenja u uzorcima pakovanim u modifikovanoj atmosferi i vakuumu bio postepen, nagli i najveći pad broja ovih bakterija zabeležen je u uzorcima u kojima su dodata etarska ulja bio je između nultog i trećeg dana ispitivanja. Broj *Salmonella* spp. nastavio je da opada u uzorcima u koje su dodata etarska ulja u nižem

stepenu do 12. dana ispitivanja, nakon čega se do kraja skladištenja broj ove patogene bakterije u skoro svim uzorcima sa dodatim etarskim uljima ostao na istom nivou, što je zabeleženo i u prethodno pomenutim ispitivanjima. Na kraju perioda skladištenja zabeležena je redukcija broja *Salmonella* spp. za 1,84 log cfu/g u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa 0,3% etarskog ulja timijana, 2,13 log cfu/g u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa 0,6% etarskog ulja, 4,05 log cfu/g u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa 0,9% etarskog ulja, 1,71 log cfu/g u uzorcima pakovanim u vakuum sa 0,3% etarskog ulja, 2 log cfu/g u uzorcima pakovanim u vakuum sa 0,6% etarskog ulja i 3,85 log cfu/g u uzorcima pakovanim u vakuum sa 0,9% etarskog ulja. Etarsko ulje origana ispoljilo je jači antimikrobni efekat u poređenju sa etarskim uljem timijana, što se može objasniti većim sadržajem fenolnih komponenti u etarskom ulju origana. Naime, etarsko ulje origana dodato u koncentraciji od 0,3% u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu redukovalo je broj *Salmonella* spp. za 2,33 log cfu/g, u uzorcima pakovanim u vakuum za 2,09 log cfu/g, dodato u koncentraciji od 0,6% u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu za 3,08 log cfu/g, u uzorcima pakovanim u vakuum za 2,76 log cfu/g, dok je dodato u koncentraciji 0,9% ispoljilo baktericidno dejstvo 12. dana ispitivanja u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i 15. dana u uzorcima pakovanim u vakuum, kada više nije zabeležen rast ove patogene bakterije na XLT4 agaru.

Rezultati pokazuju da sa porastom koncentracije etarskih ulja opada broj *Salmonella* spp.. Ova zavisnost broja bakterija i koncentracije etarskog ulja može se objasniti time da u uzorcima u koje su dodata više koncentracije nakon rastvaranja u lipidnoj frakciji mesa, ostaju veće količine etarskog ulja, koje nakon toga interaguju sa zidom bakterijskih ćelija i ispoljavaju antibakterijski efekat kao što je već opisano.



**Grafikon 3.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana



**Grafikon 4.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

Za razliku od etarskog ulja timijana, efekat etarskog ulja origana na *Salmonella* spp. je više ispitivan, pa se tako u literaturi može naći dosta podataka koji potvrđuju inhibitorno dejstvo etarskog ulja origana na *Salmonella* spp.. Govaris i sar. (2010) ispitivali su uticaj etarskog ulja origana na *S. Enteritidis* u mlevenom ovčijem mesu na temperaturama od 4° C i 10° C, kao i dejstvo etarskog ulja origana i nizina u istim uslovima. Rezultati su pokazali da etarsko ulje origana aplikovano u 0,6% kao i 0,9% koncentraciji pokazuje antimikrobnu aktivnost na obe temperature, s tim što je primenjeno u koncentraciji od 0,9% bilo potentnije. Nizin dodat u dozi od 500 i 1000 IU/g nije pokazao antimikrobni efekat, ali u kombinaciji sa etarskim uljem origana u obe koncentracije pokazuje sinergistički efekat i ima baktericidno dejstvo na *S. Enteritidis*. Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima ove doktorske diseratcije koji pokazuju da je antimikrobni efekat na *Salmonella* spp. raste sa porastom dodate koncentracije etarskog ulja.

Do sličnih rezultata došli su i de Oliveira i sar. (2013), koji su potvrdili antibakterijski efekat etarskog ulja origana na *Salmonella* spp. Oni su ispitivali dejstvo etarskog ulja origana dodatog u različitim koncentracijama u mleveno goveđe meso kontaminirano *Salmonella* spp., skladišteno na 4±2 °C tokom šest dana. U uzorcima u koje nije dodato etarsko ulje nultog dana ispitivanja, 12 h nakon pripreme uzorka broj *Salmonella* spp. bio je 6,64 log cfu/g, u uzorcima u koje je dodato etarsko ulje u koncentraciji 3,90 µl/g *Salmonella* spp. bio je 5,49 log cfu/g, u uzorcima u koje je dodato etarsko ulje u koncentraciji 7,80 µl/g *Salmonella* spp. bio je 4,21 log cfu/g, a u uzorcima sa najvišom dodatom koncentracijom 4,54 log cfu/g. Na kraju perioda skladištenja de Oliveira i sar. (2013) su našli da je broj bakterija u uzorcima bez dodatog etarskog ulja bio 6,19 log cfu/g, dok je u uzorcima u koje su dodate manje koncentracije etarskog ulja origana broj *Salmonella* spp. bio veći i iznosio je 4,32 log cfu/g, 4,23 log cfu/g, dok je u uzorcima sa najvišom koncentracijom etarskog ulja bio manji od 1 log cfu/g. Ovi rezultati su u skladu sa prijavljenim rezultatima u okviru ove doktorske disertacije i ukazuju na brzinu delovanja etarskog ulja, kao i zavisnost efekta od dodate koncentracije etarskog ulja, mada su u ogledu u okviru ove disertacije korištene niže koncentracije etarskog ulja origana.

### **6.5.2. Broj enterobakterija u mlevenom mesu**

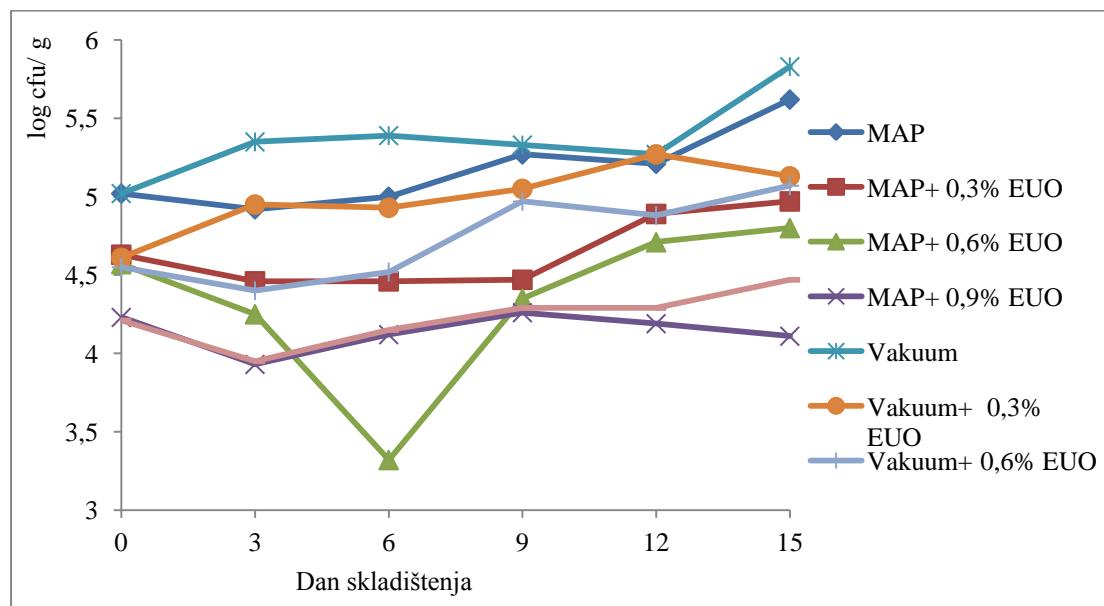
Prisustvo bakterija iz familije *Enterobacteriaceae* u mesu i proizvodima od mesa je značajno kako sa bezbednostnog aspekta, imajući u vidu da veliki broj patogenih bakterija pripada ovoj familiji, tako i s higijenskog aspekta (Sade i sar., 2013; El-Gendy i sar., 2014). Enterobakterije imaju i komercijalni značaj koji se ogleda u njihovoj mogućnosti da izazovu kvar mesa, čak i na niskim temperaturama ukoliko njihov broj dostigne vrednost od  $10^7$  cfu/g mesa (Säde i sar., 2013; Samelis, 2006; Lončina i sar., 2016). Iako je obično njihov broj nizak u poređenju sa npr. bakterijama mlečne kiseline, njihova uloga u izazivanju kvara je značajna zbog njihove sposobnosti da metabolišu amino kiseline do volatilnih komponenti neprijatnog mirisa kao što su sumporna jedinjenja i diamini (Baylis, 2006; Samelis, 2006; Säde i sar., 2013). Na inicijalni broj enterobakterija u mesu najviše utiče higijena pilikom procesa klanja i proizvodnje, ali i vrsta životinje od koje meso potiče kao i oblik u kom se meso stavlja u promet. Mleveno meso ima veći broj mikroorganizama i kraću održivost zbog toga što se tokom mlevenja mesa bakterije sa površine prenose u unutarnjost, dolazi do naknadne kontaminacije tokom manipulacije, procesom usitnjavanja mesa povećava se površina i količina dostupnih nutrijenata što pogoduje razmnožavanju bakterija (Cerveny i sar., 2009; Jay, 2012). Mikroorganizmi koji obično izazivaju kvar svežeg mlevenog mesa skladištenog na temperaturama frižidera su *Pseudomonas* spp. i psihrotrofne enterobakterije, pre svega jer su dobri kompetitori, lako metabolišu hranljive sastojke mesa i rastu u sredinama sa pH vrednosti između 5,5 i 7 (Sperber i Doyle, 2009).

U prvom delu ogleda broj enterobakterija u nekontaminiranom mlevenom svinjskom mesu na početku skladištenja bio je 5,02 log cfu/g u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana, dok je najniži bio u uzorcima sa dodatkom 0,9 % etarskog ulja pakovanim u vakuum (4,21 log cfu/g) i modifikovanu atmosferu (4,23 log cfu/g) (grafikon 5). U drugom delu ogleda broj enterobakterija u nekontaminiranim uzorcima bio je niži, ukazujući na bolji higijenski status mesa i kretao se između 3,96, odnosno 3,97 log cfu/g u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu i vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana do 3,63 log cfu/g u uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9 % etarskog ulja origana (grafikon 6).

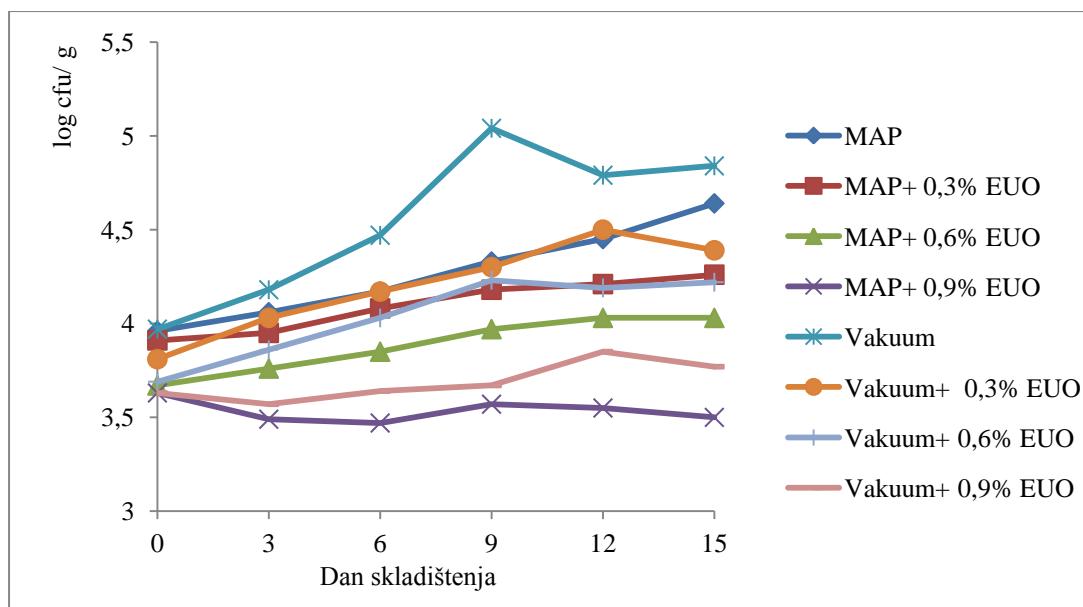
Broj enterobakterija nultog dana bio je redukovani za 0,39-0,81 log cfu/g u zavisnosti od dodate koncentracije etarskog ulja timijana i za 0,05-0,34 u zavisnosti od dodate koncentracije etarskog ulja timijana što je u skladu sa rezultatima ispitivanja Skandamis i Nychas (2001) koji su na početku ispitivanja zabeležili statistički značajnu redukciju broja enterobakterija u uzorcima mlevenog goveđeg mesa u koje su dodate različite koncentracije etarskog ulja origana (0,05-1%). Ovakvi rezultati pokazuju na izraženo antibakterijsko dejstvo etarskog ulja timijana u dodatim koncentracijama, kao i njegovo trenutno dejstvo. Kako će se inicijalni broj enterobakterija menjati tokom skladištenja zavisi od uslova skladištenja koji se pre svega odnosi na temperaturu skladištenja i način pakovanja (Doulgeraki i sar., 2012). Rezultati brojnih ispitivanja pokazala su da modifikovana atmosfera usporava ili suprimira rast enterobakterija u različitim vrstama mesa. Kakav će efekat modifikovana atmosfera imati na ove bakterije najviše zavisi od izbora gasova kao i njihove koncentracije.

Iako nultog dana ogleda nije bilo statistički značajnih razlika između uzoraka pakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, nakon trećeg dana skladištenja broj enterobakterija u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa i bez dodatka etarskog ulja timijana opao je u odnosu na broj enterobakterija na početku ogleda i bio je statistički značajno manji od broja enterobakterija u uzorcima pakovanim u vakuum sa i bez dodatka etarskog ulja, gde je broj enterobakterija porastao. Već je opisan antibakterijski efekat ugljen-dioksida i osetljivost Gram-negativnih bakterija u koje spadaju i bakterije iz familije *Enterobacteriaceae* na njegovo dejstvo. Osim što ispoljava inhibitorno dejstvo, ovaj gas se apsorbuje u mesu i utiče na sniženje pH vrednosti mesa, koja pospešuje efekat etarskih ulja. Ovim sinergističkim dejstvom se može objasniti bolji efekat etarskog ulja timijana u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa 50% CO<sub>2</sub>. Sinergistički efekat modifikvane atmosfere sa 60% CO<sub>2</sub> i etarskog ulja timijana utvrdili su Kostaki i sar. (2009), koji su u ovim uzorcima zabeležili najmanji rast enterobakterija u filetima brancina tokom 12.dana skladištenja. Slično su potvrdili i drugi autori. Pavelková i sar. (2014) istraživali su uticaj etarskog ulja origana i timijana na mikrobiološki kvalitet mesa brojlera pakovanog u vakuum. Broj enterobakterija na početku njihovog eksperimenta bio je 0 log cfu/g i ostao na tom nivou do kraja skladištenja odnosno 18 dana u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,2% etarskog ulja origana i 0,2% etarskog ulja timijana, dok je u uzorcima pakovanim aerobno dostigao 5,66 log cfu/g a u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskih ulja 5,6 log cfu/g. Rezultati ispitivanja koje su sproveli Karabagias i sar. (2011) pokazali su da je broj enterobakterija u jagnjećem mesu zabeležio najveći i najbrži rast u uzorcima pakovanim

aerobno, potom u uzorcima pakovanim aerobno u koje je dodato etarsko ulje timijana u koncentraciji 0,1%, pa uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu, dok je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,1% etarskog ulja timijana broj enterobakterija bio najmanji.



**Grafikon 5.** Prosečan broj enterobakterija ( $\log \text{cfu/g}$ ) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana



**Grafikon 6.** Prosečan broj enterobakterija ( $\log \text{cfu/g}$ ) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Rezultati ovih ispitivanja pokazuju značaj primene etarskih ulja timijana i origana kao antimikrobnih agenasa. U ogledu u okviru ove doktorske disertacije uočena je zavisnost od koncentracije etarskih ulja i broja bakterija pa se i broj enterobakterija smanjivao sa povećanjem dodate koncentracije etarskog ulja.

Tokom skladištenja broj enterobakterija je zabeležio porast, a najveći broj bakterija zabeležen je u uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskih ulja, dok je u uzorcima sa dodatkom etarskog ulja u višim koncentracijama broj bakterija opadao ili neznatno rastao.

Trend rasta enterobakterija tokom skladištenja na niskom temperaturama zabeležili su i Berruga i sar. (2005) u jagnjećem mesu tokom 28 dana skladištenja na temperature  $2^{\circ}\text{C}$ , kao i inhibitorni efekat modifikovane atmosfere koja sadrži 40% i više  $\text{CO}_2$  u poređenju sa vakuumom. Inhibitorni efekat primene visokih koncentracija ugljen-dioksida dokazali su i Esmer i sar. (2011) koji su ispitivali su uticaj aerobnog i pakovanja u modifikovanoj atmosferi sa različitim kombinacija kiseonika, ugljen-dioksida i azota na održivost mlevenog goveđeg mesa tokom 14 dana skladištenja na temperaturi od  $4^{\circ}\text{C}$ . Na kraju skladištenja broj enterobakterija bio je najviši u uzorcima pakovanim aerobno, dok je najniži bio u modifikovanoj atmosferi sa  $50\%\text{O}_2/30\%\text{CO}_2/20\%\text{N}_2$ . Porast broja enterobakterija u

jagnjećem mesu tokom skladištenja na temperature od 4 °C zabeležili su i Soldatou i sar. (2009). Uzorci pakovani aerobno imali su najveći broj enterobakterija, potom uzorci pakovani u vakuum, modifikovanu atmosferu sa 30% CO<sub>2</sub> i 70%/N<sub>2</sub>, dok je najizraženije inhibitorni dejstvo imala modifikovana atmosfera sa 70% CO<sub>2</sub> i 30%/N<sub>2</sub>.

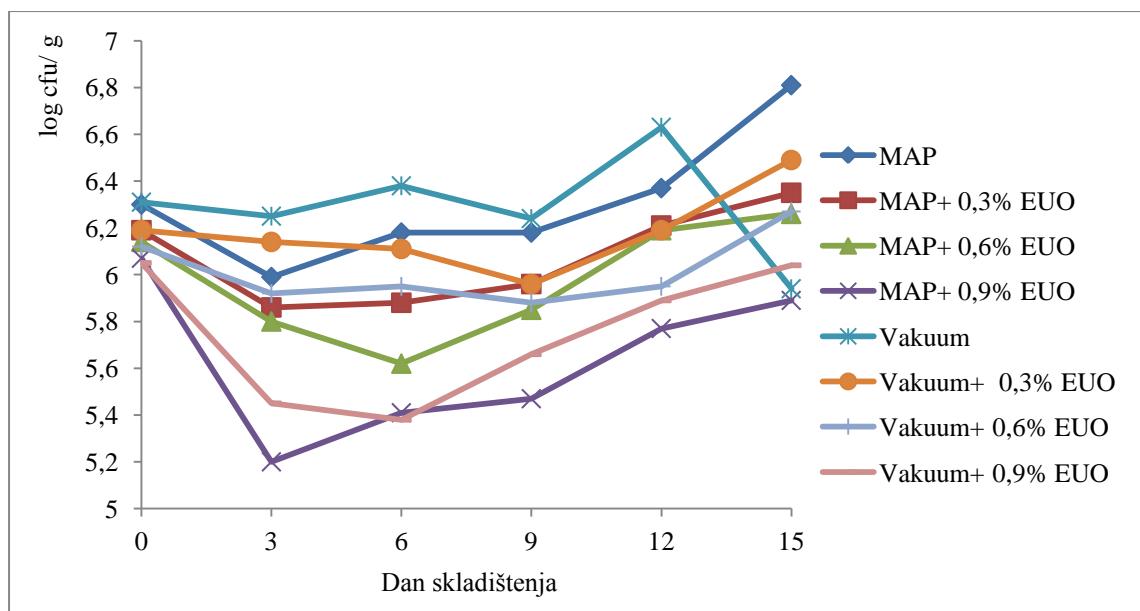
Lončina (2014) takođe naglašava značaj ugljen-dioksida u smanjenju broja enterobakterija. Tokom 12 dana skladištenja mešanog govedđeg i svinjskog mlevenog mesa prosečan broj enterobakterija opadao je u svim uzorcima, s tim što je najmanji pad zabeležen u uzorcima pakovanim u vakuum, pa uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa 30% CO<sub>2</sub>, dok je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa 50% CO<sub>2</sub> bio najmanji. Iste načine pakovanja i smeše gasova u svom ogledu koristila je i Ivanović (2014). U njenom ogledu broj enterobakterija u mlevenom svinjskom mesu je rastao tokom 12 dana skladištenja na temperaturi od 4 °C, međutim, i ovi rezultati su pokazali da je i pored trenda rasta broj enterobakterija bio najmanji u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa 50% CO<sub>2</sub>, a najveći u uzorcima pakovanim u vakuum.

Rezultati pomenutih istraživanja su u skladu sa rezultatima u okviru ove doktorske disertacije gde je na kraju perioda skladištenja broj enterobakterija bio je statistički značajno manji u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu u poređenju sa uzorcima pakovanim u vakuum. Iako je inicijalni broj enterobakterija u mlevenom mesu, korišćenom u ovom ogledu bio uglavnom viši nego u pomenutim ispitivanjima, nakon 15 dana skladištenja broj enerobakterija ni u jednoj grupi nije prešao broj od 7 log cfu/g, koji se smatra kritičnom vrednosti iznad koje ove bakterije izazivaju kvar.

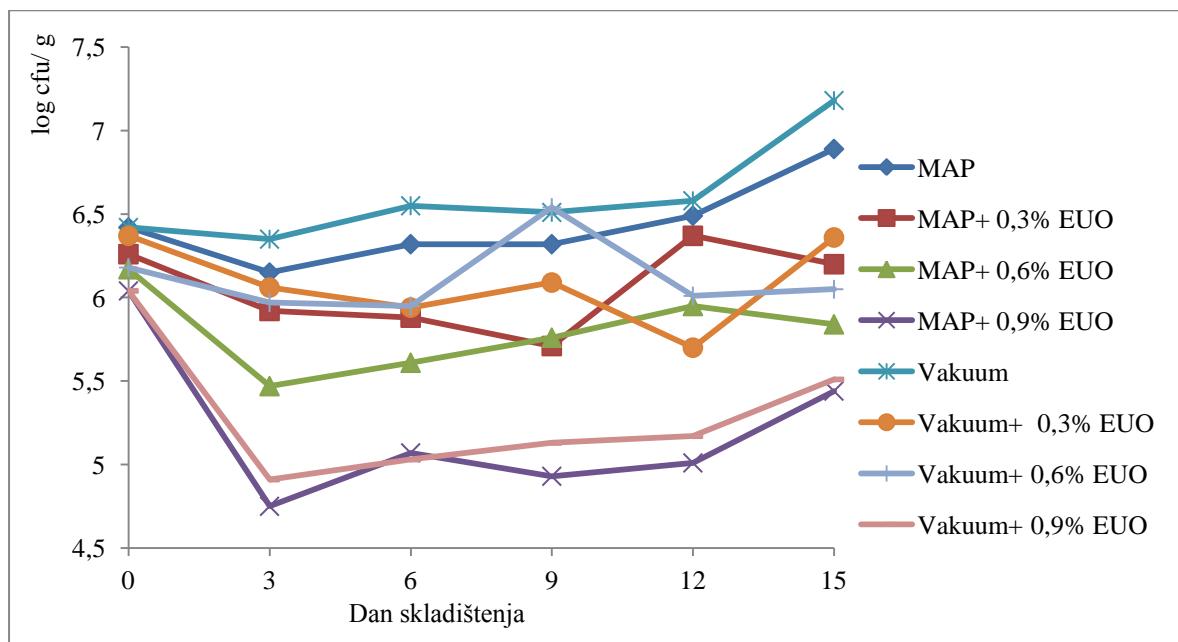
Slično ogledu u okviru ove doktorske disertacije Chouliara i sar. (2007) ispitivali su efekat različitih načina pakovanja i koncentracija etarskog ulja origana na održivost mesa brojlera skladištenog na temperaturi od 4 °C. Najveći broj enterobakterija koji je već 9 dana prerastao limit za ovu vrstu mesa zabeležen je u uzorcima pakovanim aerobno. Broj enterobakterija u mesu pakovanom u modifikovanu atmosferu sa 30% CO<sub>2</sub> i 70% N<sub>2</sub> kao i modifikovanu atmosferu sa 70% CO<sub>2</sub> i 30% N<sub>2</sub> dostigao je limit 15. dana skladištenja. U nihovom ispitivanju dodavanje 0,1% etarskog ulja origana nije značajno uticalo na inhibiciju rasta enterobakterija, ali dodavanje 1% etarskog ulja produžilo je održivost svih uzoraka bez obzira na način pakovanja i do kraja skladištenja odnosno 25 dana broj enterobakterija nije dostigao graničnu vrednost, ali je bio najviši u uzorcima pakovanim aerobno, a njaniži u uzorcima sa najvišom koncentracijom ugljen-dioksida. Ovo ukazuje na zavisnost efekta od dodate koncentracije etarskog ulja, što je u skladu sa rezultatima ove doktorske diseratcije. Sinergistički efekat pokazali su Petrou i sar. (2012) koji su našli da je broj enterobakterija na

mesu brojlera skladištenog na temperaturi od 4 °C bio niži u uzorcima u koje je dodato 0,25% etarskog ulja origana pakovano u modifikovanu atmosferu nego u uzorcima bez dodatka etarskog ulja. Oni su u svom ogledu pokazali da je najizraženiji antimikrobni efekat imao tretman prilikom koga je dodato etarsko ulje origana i citozan, što pruža nove mogućnosti za istraživanja i kombinacije etarskih ulja sa drugim antimikrobnim sredstvima u cilju postizanja sinergističkog efekta i produžavanja ordživosti mesa. Etarsko ulje origana je pokazalo jaču inhibitornu aktivnost prema enterobakterijama u odnosu na etarsko ulje origana i u uzorcima sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana na kraju ispitivanja zabeležen je neznatni porast ove grupe bakterija.

U eksperimentalno kontaminiranim uzorcima na početku i tokom ogleda broj enterobakterija bio je viši nego u nekontaminiranim uzorcima (grafikon 7 i grafikon 8), što se i očekivalo s obzirom na kontaminaciju sa *Salmonella* spp. koje pripadaju familiji *Enterobacteriaceae*. Tokom ispitivanja broj enterobakterija se prvih dana smanjivao u svim uzorcima što odgovara i smanjenju broja *Salmonella* spp. tokom ispitivanja. Poslednjih dana ispitivanja broj enterobakterija je porastao u većini eksperimentalno kontaminiranih uzoraka. Kao i u nekontaminiranim uzorcima niži broj bakterija uočen je u uzorcima sa dodatkom etarskih ulja i proporcionalno dodavanju viših koncentracija etarskih ulja broj enterobakterija je bio manji. Takođe, niži broj enterobakterija utvrđen je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu nego u uzorcima pakovanim u vakuum, što se kao i što je već objašnjeno pripisuje inhibitornom dejstvu ugljen-dioksida. Do sličnih rezultata došla je i Lončina (2014), koja je našla da je broj enterobakterija u uzorcima kontaminiranim *Salmonella* spp. pakovanim u vakuum bio statistički značajno viši od broja enterobakterija u uzorcima mesa pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 30% ili 50% ugljen-dioksida.



**Grafikon 7.** Prosečan broj enterobakterija u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana



**Grafikon 8.** Prosečan broj enterobakterija u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

### **6.5.3. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija**

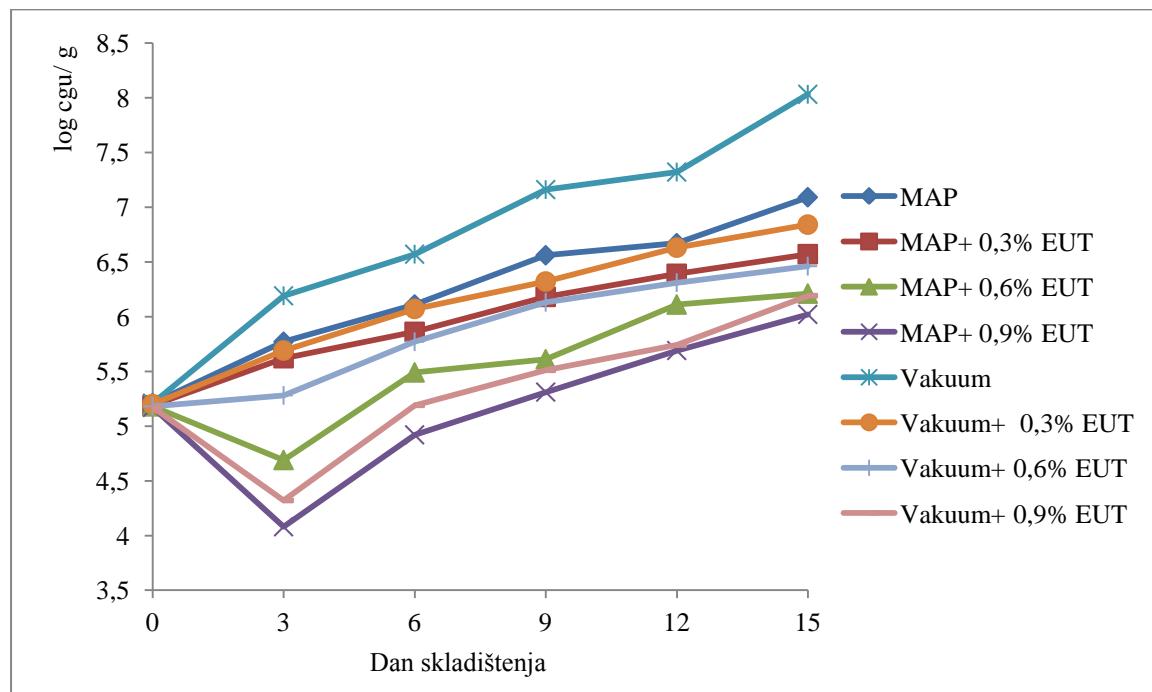
Na održivost mesa utiče i početni kvalitet sirovine, pre svega broj bakterija (Blixt i Borch, 2002).

Mišićno tkivo zdravih životinja je po pravilu sterilno. Tokom procesa klanja dolazi do kontaminacije mišića mikroorganizmima poreklom sa površine trupa, digestivnog trakta i limfnih čvorova kao i iz spoljašnje sredine odnosno okruženja. Nakon klanja broj mikroorganizma na trupu u zavisnosti od higijenskih uslova kreće se između  $10^2$  i  $10^4$  cm<sup>2</sup>. Prilikom mlevenja mesa narušava se ćelijska struktura miofibrila kao i vezivnog tkiva i oslobađa ćelijska tečnost, čime se povećava količina i dostupnost nutritivnih materija bakterijama koje se sa površine mesa šire u unutrašnjost. Ovo je razlog zbog čega je mleveno meso podložnije mikrobiološkom kvaru (EFSA, 2014). Najveći udio u inicijalnom broju mikroorganizama svežeg mesa imaju mezofilne i psihrotrofne bakterije (Motarjemi, 2013). Broj mezofilnih bakterija koristi se kao indikator higijene proizvodnje i pokazatelj kontaminacije svežeg mesa, a ova grupa bakterija je uglavnom i odgovorna za kvar mesa (Jay, 2000; Garcia, 2009; Motarjemi, 2013).

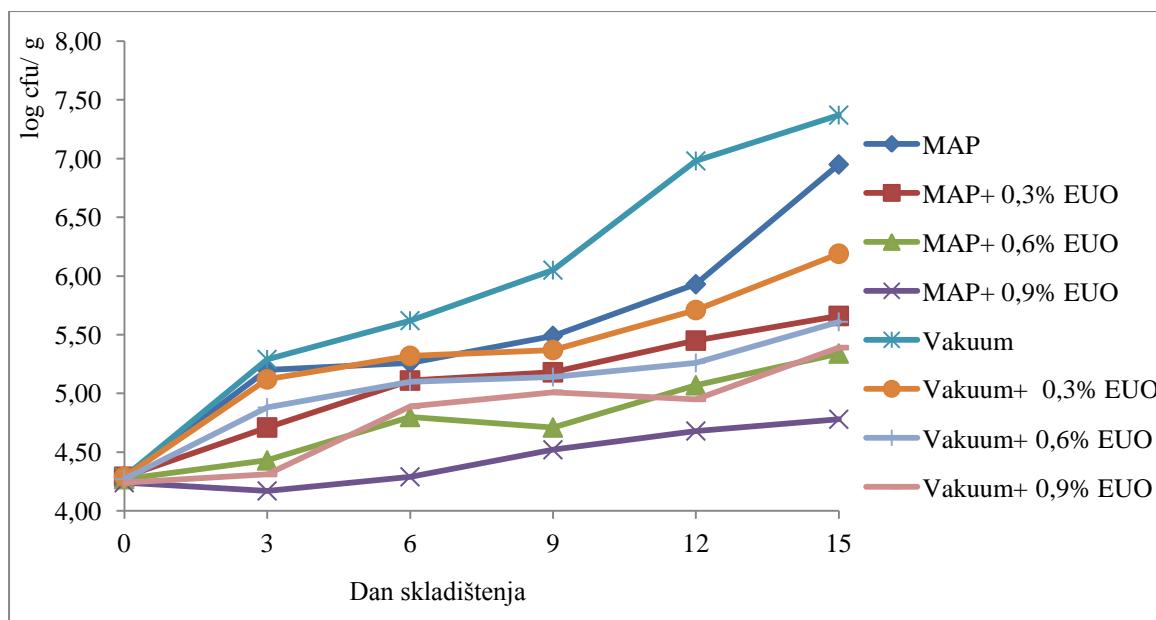
U skladu sa Regulativom (EC) 2073/2005 i Direktivom 94/65/EEC ukupan broj bakterija u mlevenom mesu ispod  $5 \times 10^5$ /g je zadovoljavajući sa higijenskog aspekta, dok broj bakterija iznad  $5 \times 10^6$ /g (6,7 log cfu/g) predstavlja nezadovoljavajući nalaz i ukazuje na lošu higijansku praksu. Inicijalni broj aerobnih mezofilnih bakterija u uzorcima svinjskog mlevenog mesa u okviru ove doktorske disertacije kretao se od 5,17 do 5,21 log cfu/g u prvom delu ogleda gde je ispitivano etarsko ulje timijana (grafikon 9), ukazujući na prihvatljiv kvalitet početne sirovine s higijenskog aspekta. Ivanović (2014) je našla visok inicijani broj aerobnih mezofilnih bakterija u mlevenom svinjskom mesu (8,10 log cfu/g). Rezultati do kojih su došli Hamilton i sar (2011) pokazali su da je prosečan ukupan broj bakterija u uzorcima mlevenog svinjskog mesa u mesarama i supermarketima na australijskom tržištu bio oko 6,2 log cfu/g, dok su Andritsos i sar. (2012) našli da je prosečan ukupni broj bakterija u mlevenom svinjskom mesu na atinskom tržištu bio 6,7 log cfu/g u mesarama i 7,2 log cfu/g u supermarketima ukazujući na loše higijensko stanje. Inicijalni broj mikroorganizama, zavisi i od vrste životinja koja se koristi za klanje. Istraživanja pokazuju da je broj bakterija uglavnom najviši na trupovima svinja (Borch i sar., 1996; Plazonić i sar., 2010), pa je i Lončina (2014) koja je u svom ogledu koristila mešano svinjsko i goveđe meso prijavila niži inicijalni broj aerobnih mezofilnih bakterija (4,59 log/cfu g). Ipak u drugom delu ogleda početni broj mezofilnih aerobnih bakterija bio je niži u odnosu na mleveno meso iz prvog

dela ogleda, ukazujući na bolji higijenski status početne sirovine i kretao se između 4,24 i 4,29 log cfu/g (grafikon 10).

Skladištenje i distribucija na niskim temperaturama kao i pakovanje namirnica su dva najčešće korištene metode konzervisanja hrane podložne mikrobiološkom kvaru (Pothakos i sar., 2012). U okviru ove doktorske disertacije praćen je uticaj oba faktora na mikrobiološki status svinjskog mlevenog mesa, kao i uticaj dodavanja etarskih ulja.



**Grafikon 9.** Prosečan ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanoj atmosferi, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana



**Grafikon 10.** Prosečan ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija ( $\log \text{cfu/g}$ ) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Trećeg dana skladištenja broj aerobnih mezofilnih bakterija opao je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana kao i u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana i ako je tokom perioda skladištenja zabeležen trend rasta ove grupe bakterija u svim uzorcima, na kraju ispitivanjima u ovim uzorcima ukupan broj bakterija je bio najniži, što se može pripisati antibakterijskom dejstvu etarskog ulja timijana.

Rezultati dosadašnjih istraživanja potvrđuju da etarska ulja u kombinaciji sa različitim načinima pakovanja ispoljavaju sinergističko dejstvo i značajno smanjuju broj različitih vrsta bakterija uključujući i ukupan broj bakterija odnosno mezofilne aerobne bakterije. Karabagias i sar., (2011) su uočili rast aerobnih mezofilnih bakterija u jagnjećem mesu skladištenom na  $4^{\circ}\text{C}$ , kao i sinergistički efekat modifikovane atmosfere ( $80\% \text{CO}_2/20\% \text{N}_2$ ) i etarskog ulja timijana na usporavanje njihovog rasta i produžavanje održivosti jagnjećeg mesa. Rezultati ispitivanja koje su sproveli Kykkidou i sar. (2009) su pokazali konstantan rast aerobnih mezofilnih bakterija u filetima sabljarke skladištenih na  $4^{\circ}\text{C}$ , pakovanim aerobno, aerobno sa dodatkom 0,1% etarskog ulja timijana, u modifikovanoj atmosferi kao i modifikovanoj atmosferi sa dodatkom 0,1 % etarskog ulja timijana. U njihovom ogledu ukupan broj bakterija prešao je limit od  $7 \log \text{cfu/g}$  šestog dana kod uzoraka skladištenih

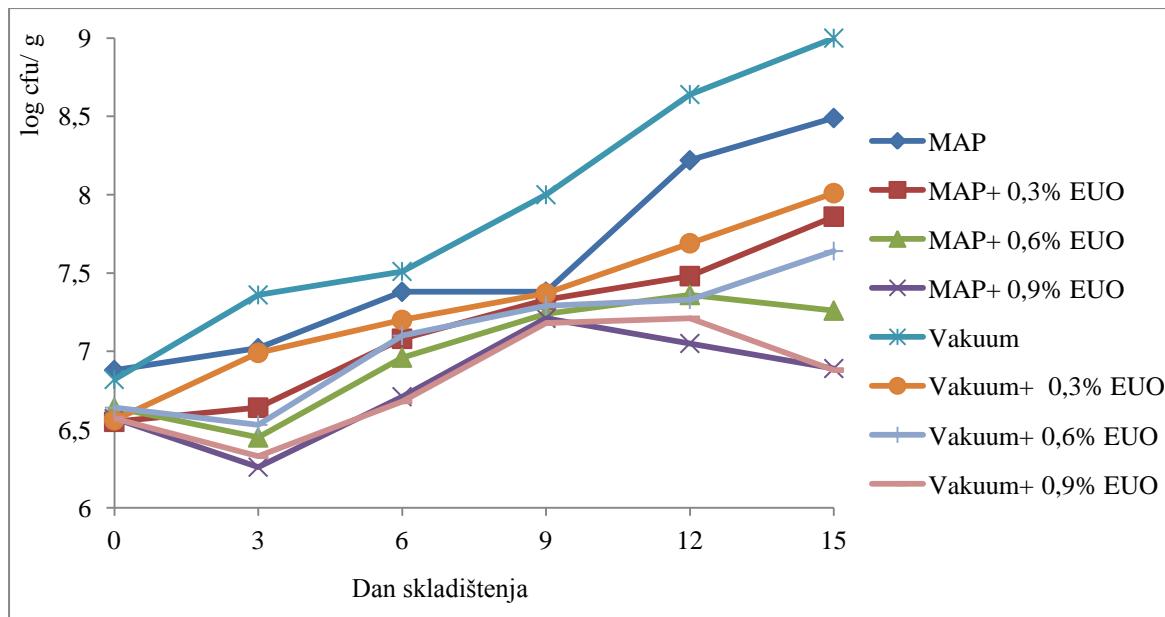
aerobno, devetog dana u uzorcima skladištenim aerobno sa dodatkom 0,1% etarskog ulja timijana, 12. dana kod uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu i 15. dana u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,1% etarskog ulja timijana.

Bakteriostatsko i baktericidno dejstvo etarskog ulja origana je dobro opisano u literaturi. Pavelková i sar. (2014) zabeležili su smanjenje broja mezofilnih aerobnih bakterija na grudima brojlera pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,2% etarskog ulja origana, što je suprotno rezultatima ispitivanja u okviru ove doktorske disertacije gde je zabeležen rast aerobnih mezofilnih bakterija u svim uzorcima tokom perioda skladištenja. Ove razlike se mogu objasniti vrstom mesa koje je korišćeno, odnosno većim sadržajem masti, koje kao što je pomenuto smanjuje efikasnost etarsih ulja, u svinjskom u poređenju sa pilećim mesom. Frangos i sar., (2010) su zabeležili rast ukupnog broja bakterija u soljenim filetima pastmke pakovane u vakuum sa dodatkom 0,2% i 0,4% etarskog ulja origana. Fernandes i sar. (2016) su u mlevenom jagnjećem mesu sa dodatkom začina i 1% etarskog ulja origana, pakovanom u modifikovanu atmosferu uočili rast aerobnih mezofilnih bakterija tokom celog perioda skladištenja. Karabagias i sar. (2011) dokazali su da dodatak 0,1 i 0,3% etarkog ulja origana usporava rast aerobnih mezofilnih bakterija u jagnjećem mesu. Ovi rezultati su u skladu sa rezultatima prijavljenim u okviru ove doktorske disertacije.

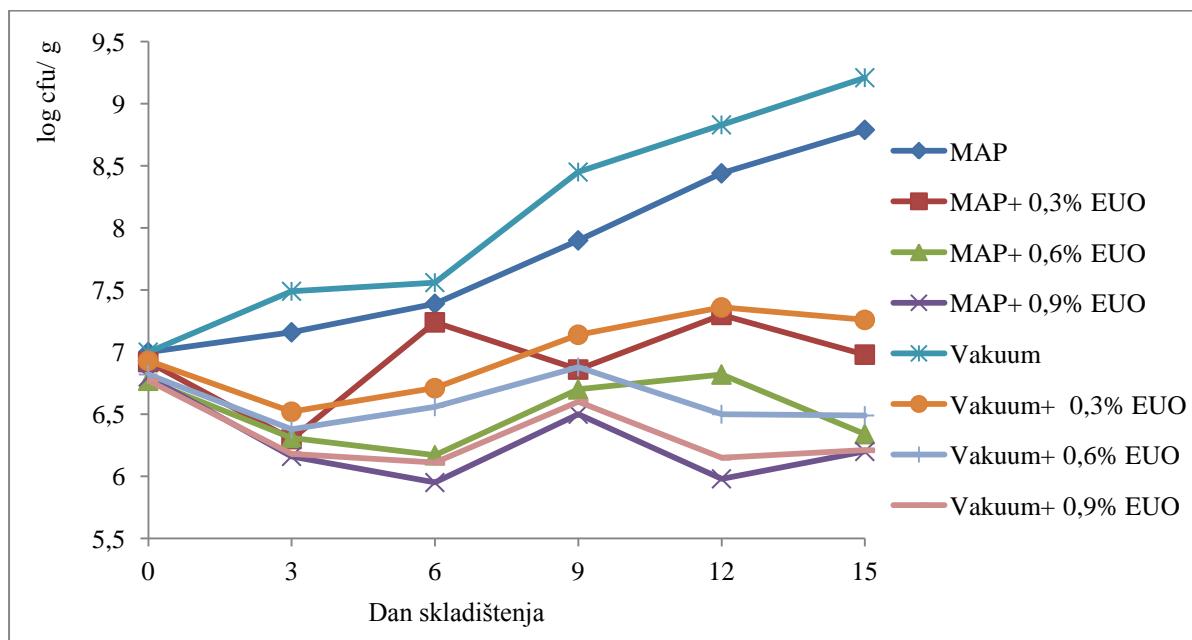
Osim dodavanja etarskog ulja i način pakovanja značajno je uticao je na broj aerobnih mezofilnih bakterija i u ogledu u okviru ove doktorske disertacije pa je tako njihov rast bio brži u uzorcima pakovanim u vakuum u poređenju sa uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu. U uzorcima pakovanim u vakuum broj aerobnih mezofilnih bakterija bio je najviši do kraja skladištenja, a limit prihvatljivosti od 7 log cfu/g dostigao je devetog dana ispitivanja u nekontaminiranim uzorcima mesa u prvom delu ogleda i 12. dana u uzorcima mesa u drugom delu ogleda. Ove razlike pripisuju se višem početnom broju bakterija u mesu korišćenom u prvom delu ogleda u odnosu na meso korišćenom u drugom delu. Niži broj bakterija u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu može se pripisati dejstvu ugljen-dioksida koji usporava rast bakterija tako što produžava lag fazu rasta bakterija, kao i generacijsko vreme (Singh i sar., 2011). Yilmaz i Demirci (2010) su zabeležili rast od oko 2 log cfu/g u usitnjrenom telećem mesu sa dodatkom začina tokom skladištenja na 4 °C. Inicijalni broj bakterija u njihovom ogledu bio je nešto viši (5,59 log cfu/g) od ukupnog broja bakterija od broja bakterija u uzorcima u okviru ove doktorske disertacije. U njihovom istraživanju ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija prerastao je preporučene granice sedmog dana u uzorcima pakovanim u vakuum i devetog dana u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu (65%N<sub>2</sub>/ 35%CO<sub>2</sub>). U ogledu u okviru ove doktorske disertacije,

održivost uzoraka pakovanih u modifikovanoj atmosferi bila je duža, što se može objasniti upotrebom više koncentracije ugljen-dioksida. Irkin i sar. (2011) su takođe našli brži rast i veći broj aerobnih mezofilnih bakterija u uzorcima mlevenog goveđeg mesa pakovanim u vakuum, gde je ukupan broj bakterija dostigao 7 log cfu/g devetog dana skladištenja, u odnosu na uzorce pakovane u modifikovanu atmosferu gde se ukupan broj bakterija 14.dana skladištenja kretao između 4,05 i 6,92 log cfu/g i bio je niži u uzorcima koji su pakovani u modifikovanu atmosferu sa višim koncentracijama ugljen-dioksida. Porast broja aerobnih mezofilnih bakterija u mlevenom mesu svinja pakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu sa 30% i 50% ugljen diokisda tokom dvanaest dana skladištenja zabeležila je i Ivanović (2014), kao i Lončina (2014) u mešanom mlevenom svinjskom i goveđem mesu. Rezultati oba ogleda su potvrdila da je najveći broj bakterija bio u uzorcima pakovanim u vakuum, što je u skladu sa rezultatima oba ispitivanja u okviru ove doktorske disertacije.

U eksperimentalno kontaminiranim uzorcima u oba dela ogleda ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija bio je viši nego u nekontaminiranim uzorcima (grafikon 11 i grafikon 12), što je bilo i očekivano s obzirom na naknadnu kontaminaciju ovih uzoraka sa *Salmonella* spp. U eksperimentalno kontaminiranim uzorcima broj aerobnih mezofilnih bakterija se smanjivao do trećeg odnosno u nekim uzorcima do šestog dana nakon čega je rastao i bio statistički značajno veći u uzorcima bez dodatka etarskih ulja od broja bakterija u uzorcima u kojima su dodata etarska ulja ispoljila bakteriostatski efekat. Etarsko ulje origana ispoljilo je jaču inhibitornu aktivnost od etarskog ulja timijana na broj aerobnih mezofilnih bakterija što se može objasniti višim sadržajem fenolnih komponenti u etarskom ulju origana.



**Grafikon 11.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana



**Grafikon 12.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

#### **6.5.4. Broj bakterija mlečne kiseline**

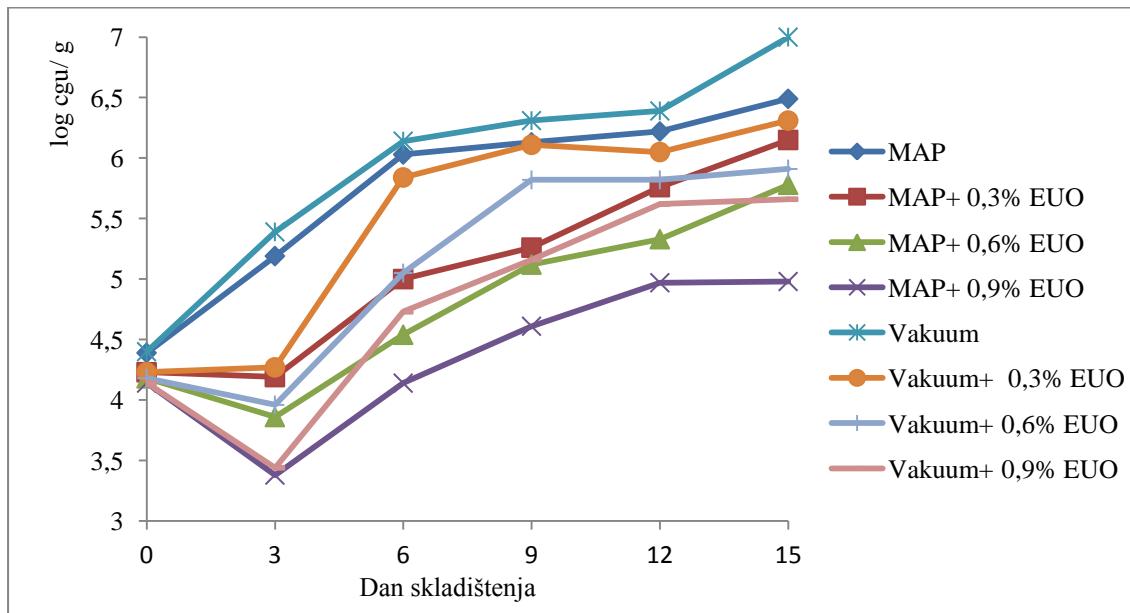
Kada je inhibiran rast aerobnih bakterija, bilo primenom niskih temperatura ili modifikovanjem atmosfere, bakterije mlečne kiseline postaju dominantne bakterije u mesu i zbog svoje otpornosti i mogućnosti da rastu u odsustvu kiseonika, prisustvu nitrita i visokih koncentracija soli, u uslovima dimljenja, kao i pri niskim pH vrednostima mogu da izazovu kvar svežeg mesa i proizvoda od mesa (Egan, 1983; Doulgeraki i sar., 2010; Pothakos i sar., 2015). Takođe bakterije mlečne kiseline su dobri kompetitori i često predstavljaju dominantnu bakterijsku populaciju u mesu pakovanom u vakuum i modifikovanu atmosferu (Doulgeraki i sar., 2012), što potvrđuju i rezultati ogleda ove doktorske disertacije. Prema literaturnim podacima za kvar svežeg mesa koje se čuva na temperaturama frižidera pre svega su odgovorne bakterije mlečne kiseline iz roda *Lactobacillus*, *Carnobacterium* i *Leuconostoc* (Labadie, 1999; Doulgeraki i sar., 2012).

U prvom delu ogledu u okviru ove doktorske disertacije početni broj bakterija mlečne kiseline je bio relativno visok i kretao se od 4,40 i 4,39 log cfu/g u uzorcima bez dodatka etarskog ulja do 4,14 log cfu/g u uzorcima u koje je dodato etarsko ulje timijana (grafikon 13). Trećeg dana skladištenja broj bakterija mlečne kiseline je rastao u uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana, ostao približno isti kao na početku skladištenja u uzorcima u koje je dodato 0,3% etarskog ulja timijana i opao u uzorcima u koje su dodate 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijana. Način pakovanja nije uticao na broj bakterija mlečne kiseline koliko na druge vrste bakterija, mada je manji broj ovih bakterija zabeležen u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu, dok su statistički značajne razlike uočene samo u koje su dodate više koncentracije etarskog ulja timijana u odnosu na uzorke sa nižim koncentracijama ili bez dodatka etarskog ulja timijana bez obzira da li su uzorci bili pakovani u vakuum ili modifikovanu atmosferu. Smanjenje broja bakterija mlečne kiseline bilo je srazmerno dodatoj koncentraciji etarskog ulja i može se objasniti činjenicom da su Gram-pozitivne bakterije veoma osetljive na dejstvo etarskih ulja (Burt, 2004). Od šestog dana do kraja perioda skladištenja broj bakterija mlečne kiseline je rastao u svim uzorcima različitom dinamikom. Za razliku od ostalih ispitivanih vrsta bakterija na čiji broj je uticao način pakovanja, do devetog dana skladištenja nije bilo statistički značajnih razlika u broju bakterija mlečne kiseline između uzoraka pakovanih u vakuum i uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu. Ovakvi rezultati se mogu objasniti visokom otpornošću bakterija mlečne kiseline na antibakterijsko dejstvo ugljen-dioksida pošto ga i same proizvode tokom respiracionih procesa, zbog čega ove bakterije dobro rastu u mesu

pakovanom u modifikovanu atmosferu sa visokim koncentracijama ovog gasa (Egan, 1983; Dixon i Kell, 1989; Adams i sar., 2015). S obzirom na to da je ugljen-dioksid bolje rastvorljiv na niskim temperama, skladištenjem mesa u modifikovanu atmosferu na temperaturama frižidera inhibira rast velikog broja mikroorganizama, naročito Gram–negativnih bakterija, što omogućava rast dobrim kompetitorima i fakultativno anaerobnim mikroorganizmima poput bakterija mlečne kiseline (Pothakos i sar., 2015). Zbog ovoga bakterije mlečne kiseline predstavljaju dobre kandidate za izazivanje kvara svežeg mesa bez obzira na način pakovanja (Pothakos i sar., 2015). U literaturnim podacima naglašava se uloga psihrotrofnih bakterija mlečne kiseline u nastanku kvara kada njihov broj pređe  $10^7$  cfu/g. Tada dolazi do razvoja neprijatnog kiselog ukusa i mirisa, što dovodi do senzorne neprihvatljivosti mesa (Jacxsens i sar., 2003; Mataragas i sar., 2006; Pothakos i sar., 2012). Petnaestog dana ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline bio je najviši u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana i iznosio 7 log cfu/g. Lavieri i Williams (2014) 14. dana ispitivanja prijavili su rast bakterija mlečne kiseline u mlevenom goveđem mesu pakovanom u vakuum za 3,4 log cfu/g, dok je u ogledu u okviru ove doktorske disertacije taj rast bio nešto niži i iznosio oko 3,08 log cfu/g. Blixt i Borch (2002) zabeležili rast bakterija mlečne kiseline za oko 5 log cfu/g u uzorcima mlevenog svinjskog mesa vrata i karea pakovanim u vakuum nakon dve nedelje skladištenja. Sem u uzorcima pakovanim u vakuum broj bakterija mlečne kiseline bio je niži od granice prihvatljivosti i najviši u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana (6,49 log cfu/g), dok u uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja timijan bio ispod 6 log cfu/g.

Iako su bakterije mlečne kiseline među Gram- pozitivnim bakterijama najotpornije na dejstvo etarskih ulja (Kostaki i sar., 2009), dodatak etarskog ulja u svim dodatim koncentracijama uspeo je da uspori njihov rast bez obzira na način pakovanja. Upotreba modifikovane atmosfere sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana usporila je rast bakterija mlečne kiseline za 2,02 log cfu/g u poređenju sa vakuumom. Trend rasta broja bakterija mlečne kiseline dokazali su i Kostaki i sar. (2009) u filetima brancina pakovanih u modifikovanu atmosferu sa i bez dodatka 0,2% etarskog ulja timijana tokom skladištenja na temperaturi od  $4\pm0,5$  °C. Njihovi rezultati pokazuju da je broj bakterija mlečne kiseline rastao sporije u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa višom koncentracijom ugljen-dioksida (60%) u odnosu na nižu koncentraciju (40%), kao i da je dodatak etarskog ulja u kombinaciji sa modifikovanom atmosferom imao jači antibakterijski efekat. Karabagias i sar. (2011) su takođe zabeležili rast bakterija mlečne kiseline u uzorcima jagnjećeg mesa pakovanog

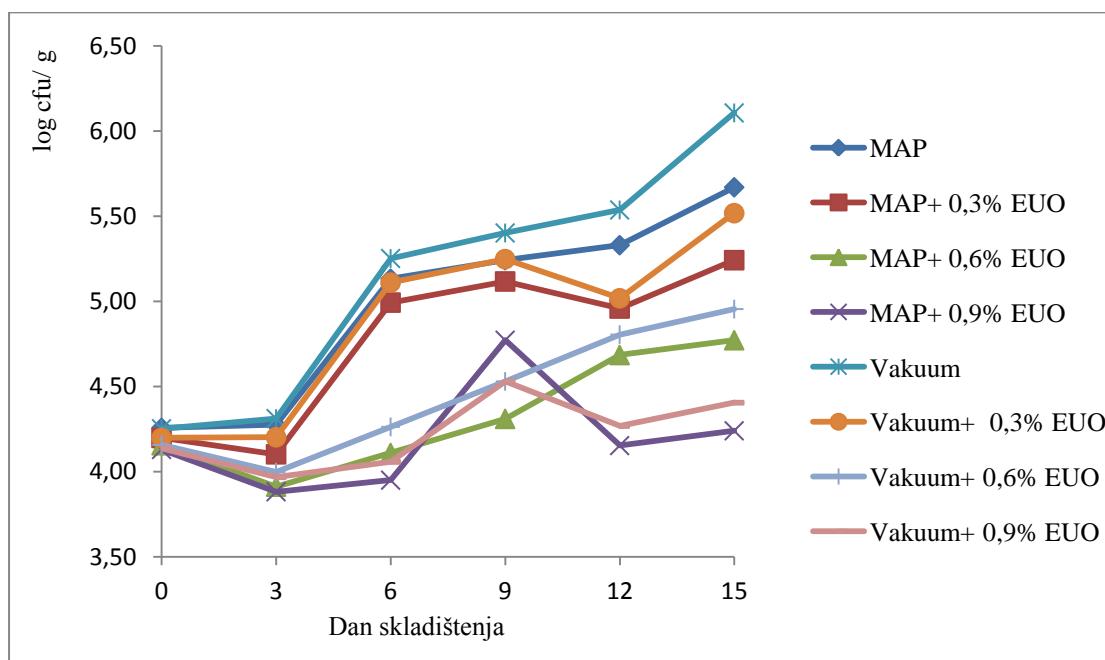
aerobno i u modifikovanoj atmosferi sa i bez dodavanja 0,1% etarskog ulja timijana, skladištenih na 4°C. Njihovi rezultati pokazuju da je broj bakterija mlečne kiseline najsporije rastao i bio najniži u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom etarskog ulja timijana, što je u skladu sa rezultatima ove doktorske disertacije.



**Grafikon 13.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

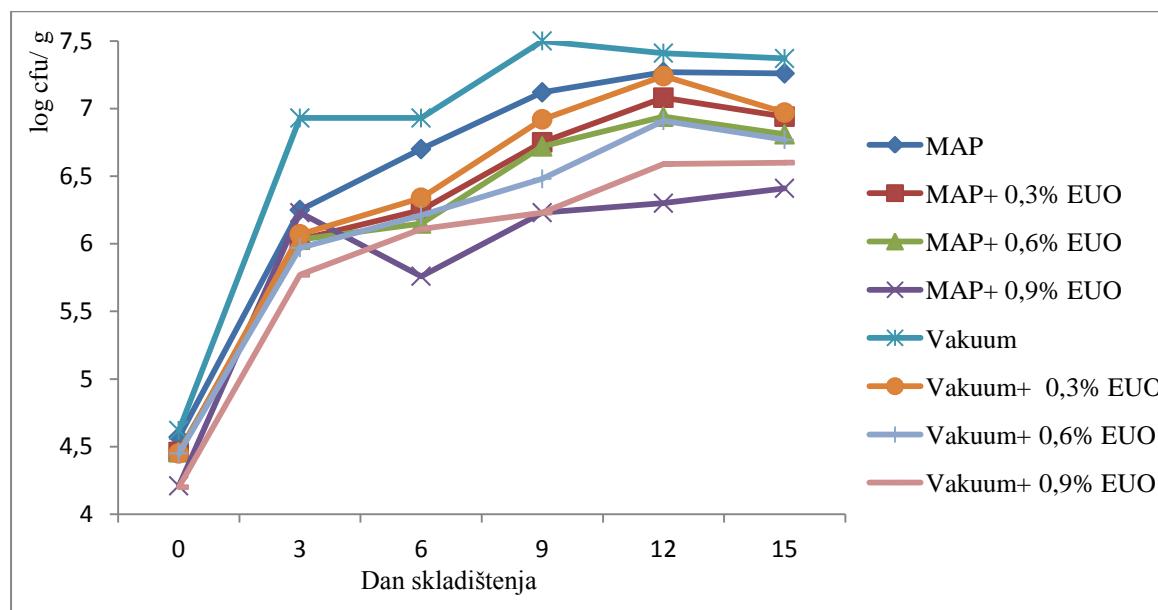
U drugom delu ogleda prilikom koga je ispitivan uticaj etarskog ulja origana, na početku perioda ispitivanja broj bakterija mlečne kiseline kretao se između 4,13 i 4,26 log cfu/g (grafikon 14). Kao i uprvom delu ogleda u nekontaminiranim uzorcima takođe je uočen pad bakterija mlečne kiseline u uzorcima u koje je dodato etarsko ulje u višim koncentracijama i do šestog dana nisu uočene statistički značajne razlike u broju bakterija mlečne kiseline između uzoraka pakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, nakon čega se broj ovih bakterija ubrzano povećavao u uzorcima pakovanim u vakuum. Na kraju perioda skladištenja najniži broj ovih bakterija bio je u uzorcima sa najvišim koncentracijama etarskog ulja, a sem u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana (6,11 log cfu/g), broj bakterija mlečne kiseline bio je ispod 6 log cfu/g. Petrou i sar. (2012) zabeležili su rast broja bakterija mlečne kiseline u mesu grudi brojlera skladištenih na 4 °C i pakovanih u modifikovanu atmosferu (30% CO<sub>2</sub> i 70% NO<sub>2</sub>), dok su rezultati pokazali da je u uzorcima u

koje je dodato etarsko ulje origana broj ovih bakterija opao trećeg dana skladištenja nakon čega je zabeležen rast do kraja perioda skladištenja, ali je broj bakterija bio statistički značajno manji neko u uzorcima bez dodatka etarskog ulja origana. Chouliara i sar. (2009) prijavili su redukciju broja bakterija mlečne kiseline u uzorcima grudi brojlera skladištenim na temperaturi od 4 °C aerobno i u dve različite modifikovane atmosfere (30% CO<sub>2</sub>/70%N<sub>2</sub> i 30% CO<sub>2</sub>/70%N<sub>2</sub>) sa dodatkom 0,1% i 1% etarskog ulja origana u odnosu na uzorce bez etarskog ulja. I dok su uočene razlike u broju bakterija mlečne kiseline u uzorcima koji su pakovani u različitim uslovima u koje je dodata niža koncentracija etarskog ulja origana, u uzorcima u koje je dodata viša koncentracija etarskog ulja način pakovanja nije imao značajnog uticaja tokom devet dana skladištenja i broj bakterija mlečne kiseline je bio ispod 1 log cfu/g, nakon čega je rastao najviše u uzorcima pakovanim aerobno a najmanje u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa visokom koncentracijom ugljen-dioksida.

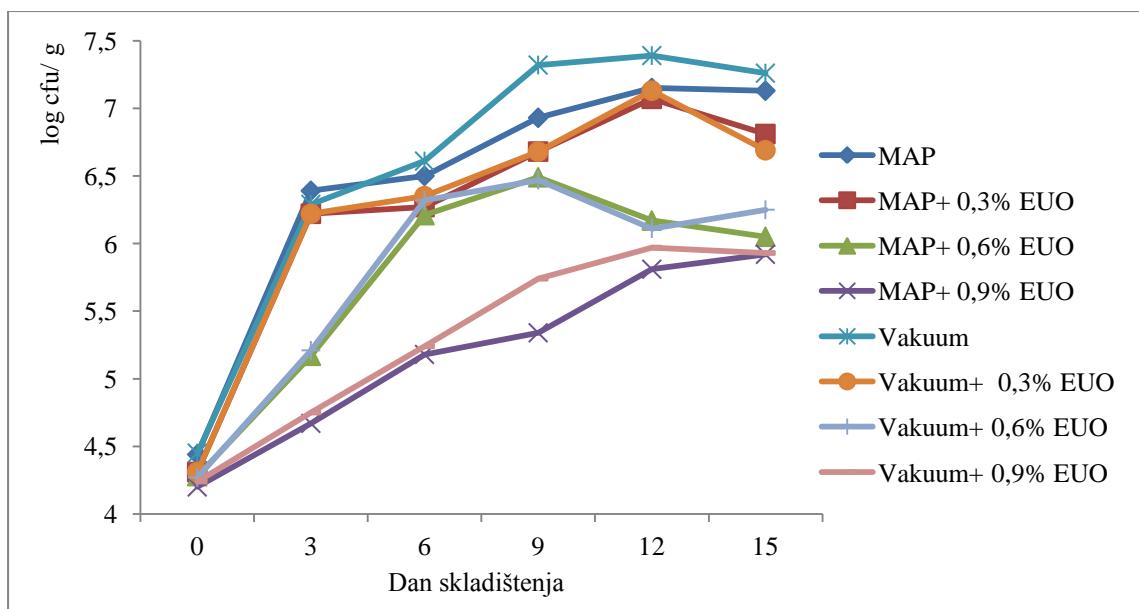


**Grafikon 14.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

U kontaminiranim uzorcima broj bakterija mlečne kiseline zabeležio je nagli porast od oko 1-2 log cfu/g u prva tri dana skladištenja nakon čega je broj bakterija mlečne kiseline do dvanaestog dana bio na približno istom nivou ili zabeležio blagi porast, da bi do petnaestog dana broj ovih bakterija opao u skoro svim uzorcima (grafikon 15 i grafikon 16). Bakterije mlečne kiseline kao što je već pomenuto pored toga što su otporne su i dobri kompetitori, što im omogućava rast i u uslovima kada već postoji veliki broj bakterija, a dostupnost i količina hranljivih materija u medijumu je ograničena (Jansen i sar., 2004), što je bio slučaj u kontaminiranim uzorcima.



**Grafikon 15.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana



**Grafikon 16.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

## 6.6. Promena pH vrednosti

U optimalnim uslovima pH vrednost svinjskog mesa pada do 5,5-5,8 i ove vrednosti dostiže već nakon 6-8h nakon klanja (Devine i Jensen, 2004). Na početku ispitivanja u prvom delu ogleda prilikom koga je ispitivano etarsko ulje origana pH vrednost mlevenog svinjskog mesa kretala se između 5,83 i 5,85 (grafikon 17), a u drugom delu ogleda bila je nešto viša i kretala se između 6,01 i 6,06 (grafikon 18). Sličnu pH vrednost od 6,04 u svežem mlevenom svinjskom mesu zabeležela je i Ivanović (2014).

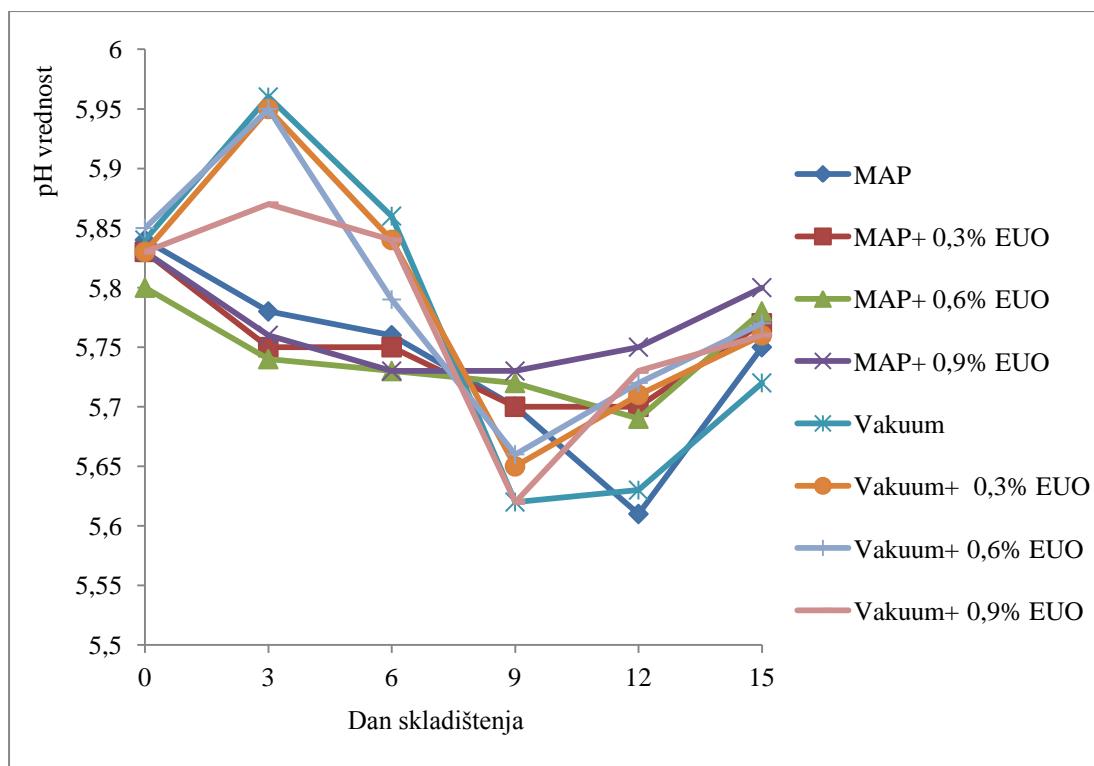
U odnosu na početnu pH vrednost, na kraju perioda ispitivanja pH je opala u svim ispitivanim uzorcima, ali se tokom skladištenja menjala različitom dinamikom u različitim grupama uzoraka. Na početku ispitivanja nisu uočene statistički značajne razlike između grupa uzoraka, ali trećeg dana skladištenja pH vrednost je opala u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa i bez dodatka etarskog ulja timijana i bila značajno niža od uzoraka pakovanih u vakuum. Bolja apsorpcija ugljen-dioksida se postiže pri višim količinama vode u mediumu i raste sa sniženjem temperture (Chaix i sar., 2014) zbog čega su uslovi u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bili pogodni za dobru apsorpciju ugljen-dioksida, što je kao posledicu imalo stvaranje ugljene kiseline (Masniyom, 2011) čime

se objašnjava pad pH vrednosti u tim uzorcima. Ovaj odnos održao se do devetog dana nakon čega je zabeležen nagli pad pH vrednosti u uzorcima pakovanim u vakuum sa i bez dodatka etarskog ulja timijana. Ovaj pad pH vrednosti može se pripisati porastu broja bakterija mlečne kiseline koje proizvode ugljen-dioksid, a i stvaraju kiselu sredinu u mesu proizvodnjom mlečne kiseline. Na kraju perioda ispitivanja zabeležen je blagi porast pH vrednosti u svim uzorcima što se objašnjava porastom baznih, azotnih jednjenja koja nastaju kao posledica proteolize uzrokovane porastom broja bakterija u mesu tokom skladištenja (Aksu i Kaya, 2005; Irkin i sar. 2011).

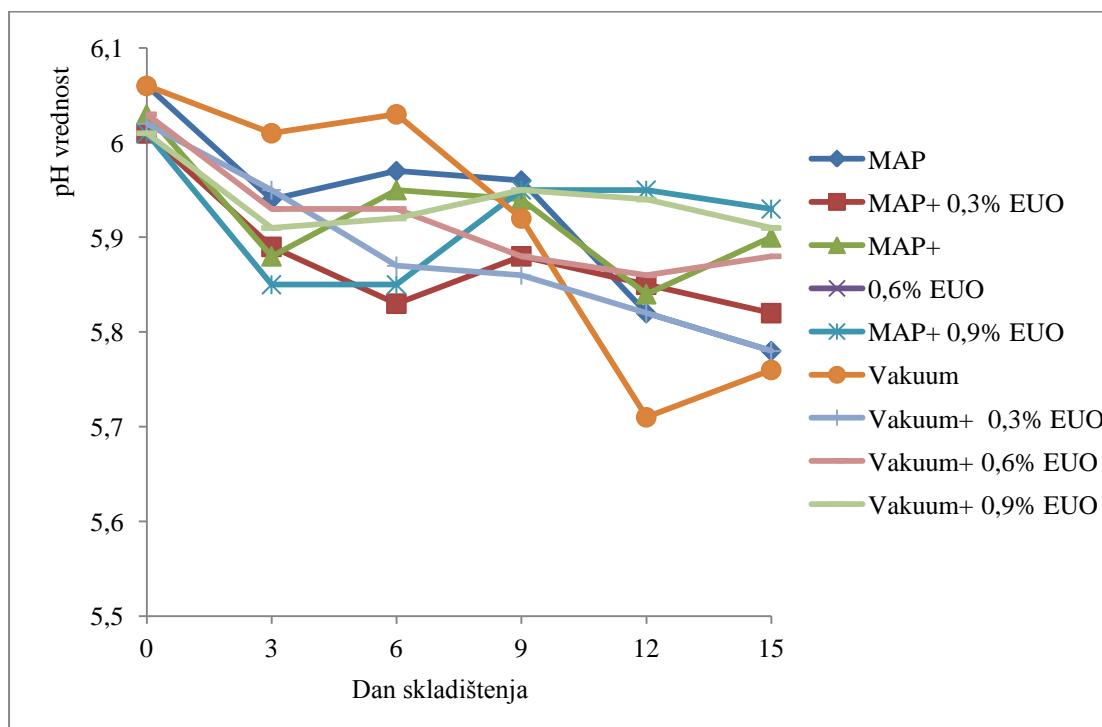
Da na pH vrednost mesa utiče način pakovanja pokazuju rezultati brojnih istraživanja. Tako su Irkin i sar. (2011), zabeležili pad pH vrednosti u uzorcima mlevenog goveđeg mesa skladištenom u vakuum i modifikovanu atmosferu sa različitim smešama gasova. Prvih dana skladištenja i oni su zabeležili veći pad pH vrednosti u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu, da bi na kraju skladištenja taj odnos bio sličan onom u ogledu ove doktorske disertacije, pokazujući najniže pH vrednosti u uzorcima pakovanim u vakuum, a najviši u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom ugljenidoksida, što se povezuje sa njegovim inhibitornim dejstvom na bakterije koje svojim metabolizmom proizvode ugljen-dioksid. Slično, Lavieri i Williams (2014) su zabeležili pad pH vrednosti tokom skladištenja na temperaturi  $4\pm1$  °C tokom 25 dana, u uzorcima goveđeg mlevenog mesa pakovanog u vakuum i modifikovanu atmosferu sa 30% CO<sub>2</sub>. Ivanović (2014) je takođe u svom ogledu zabeležila pad pH vrednosti u uzorcima mlevenog svinjskog mesa pakovanog u modifikovanu atmosferu sa 30% i 50% ugljen-dioksida i vakuum, s tim što je kao i u ogledu ove doktorske disertacije, i ona prijavila veći pad pH vrednosti u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu do devetog dana ispitivanja, da bi na kraju skladištenja dvanaestog dana pH vrednost bila najniža u uzorcima sa najvišim bojem bakterija mlečne kiseline, odnosno uzorcima pakovanim u vakuum. Karabagias i sar. (2011) su zabeležili pad pH vrednosti tokom skladištenja u ovčijem mesu pakovanom u modifikovanu atmosferu sa 60% CO<sub>2</sub>, a pad su objasnili rastvorljivošću ugljen-dioksida u mesu i aktivnošću bakterija mlečne kiseline. Veliki broj autora navodi da različiti faktori utiču na pH vrednost mesa, ali da je rast bakterija koje proizvode mlečnu kiselinu glavni uzrok snižavanja pH vrednosti pakovanog mesa (Patsias i sar., 2006; Fernandez-Lopez i sar., 2008; Gok i sar., 2008; Irkin i sar. 2011). Tako su Blixt i Borch (2002) zabeležili pad pH vrednosti u uzorcima mlevenog svinjskog mesa vrata i karea pakovanim u vakuum tokom 8 nedelja opadala, dok je broj bakterija mlečne kiseline rastao. Pad pH vrednosti u svinjskom mesu skladištenom na temperaturi od 5 °C, pakovanom u vakuum, zabeležili su Lee i Jang (2013). Početna pH vrednost mesa koje su

koristili bila je 5,77 nakon čega je opadala do 8 dana ispitivanja, a potom do 19. dana rasla i bila 5,78. Slična početna pH vrednost mesa sa trendom pada prvih dana skladištenja i kasnijim porastu zabeležen je u ogledu u okviru ove doktorske disertacije.

pH vrednost u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bila je neznatno viša u uzorcima bez dodatka etarskog ulja timijana ili origana, a proporcionalno dodatoj koncentraciji eatarskog ulja se povećavala. Ovaj nalaz odgovara količini ugljen-dioksida koji je izmeren u pakovanjima modifikovane atmosfere. Naime, porast i veće koncentracije ugljen-dioksida i smanjenje količine kiseonika, što se pripisuje respiracionim bakterijskim procesima, izmerene su u pakovanjema bez i sa nižom koncentracijom dodatog etarskog ulja, što je moglo da utiče na stvaranje kiselije sredine i nižu pH vrednost u tim uzorcima. Slično rezultatima ogleda ove doktorske disertacije Aminzare i sar. (2015) su zabeležili manji pad pH vrednosti u uzorcima Lyoner- kobasice u koje je dodato etarsko ulje cejlonskog cimeta i najniža pH vrednost bila je u uzorcima bez dodatka etarskog ulja, a najviša sa dodatkom etarskog ulja što su pripisali inhibitornom dejstvu etarskih ulja na bakterije mlečne kiseline. Michalczyk i sar. (2012) zabeležili su pad pH vrednosti u mlevenom goveđem mesu pakovanom u vakuum. Viši pad pH vrednosti zabeležen je u kontrolnim uzorcima u poređenju sa uzorcima sa dodatkom etarskog ulja korijandera i hisopa gde je zabeležena neznatno viša pH vrednost, što je u skladu sa rezultatima ogleda ove doktorske disertacije.

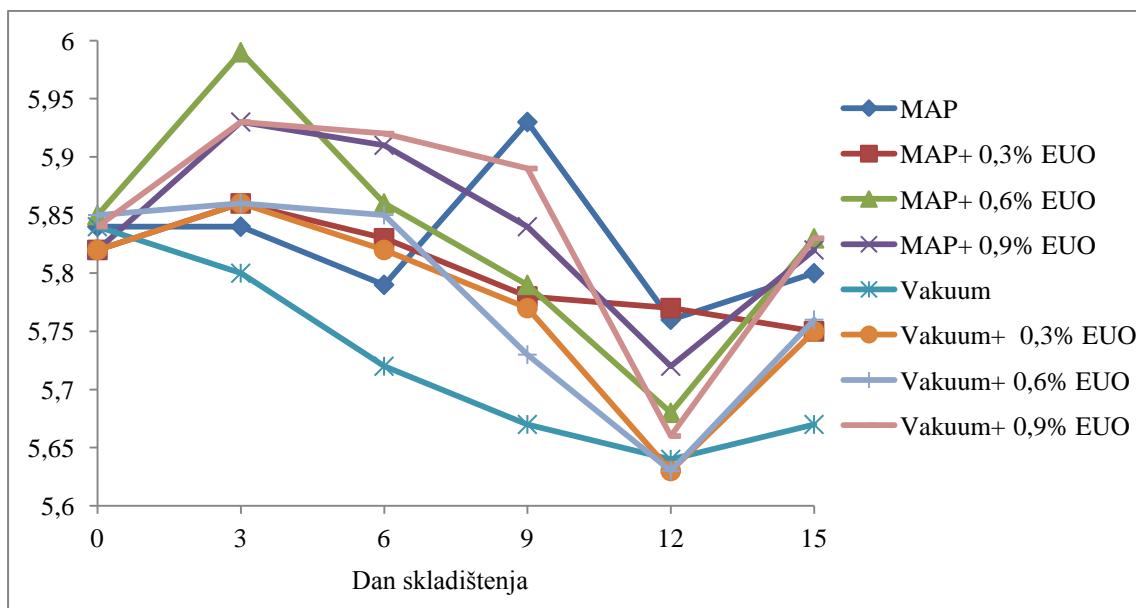


**Grafikon 17.** Prosečna pH vrednost u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

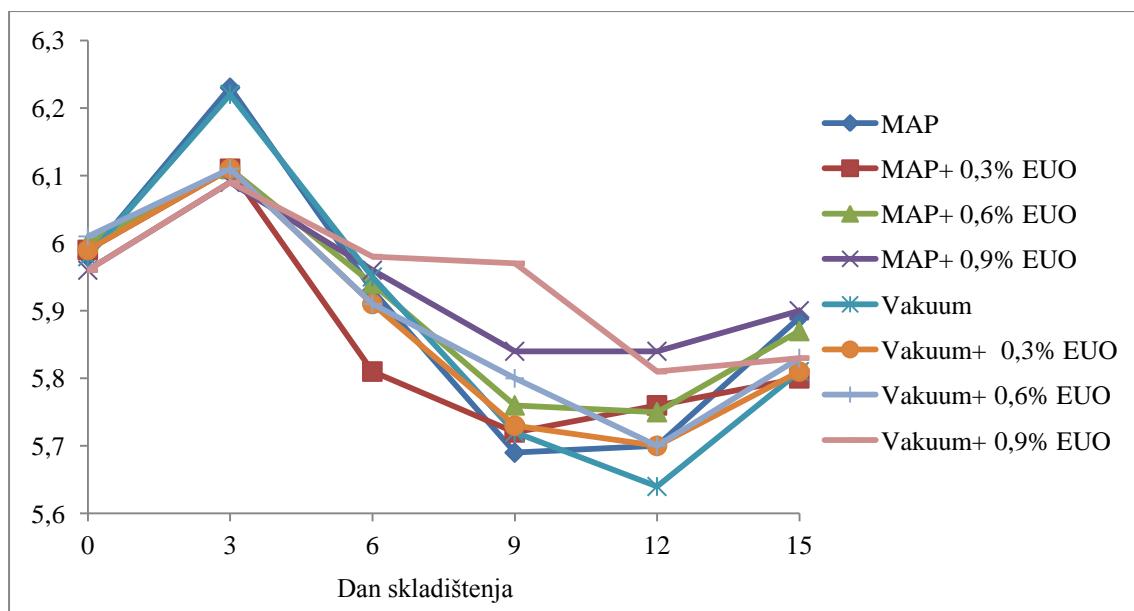


**Grafikon 18.** Prosečna pH vrednost u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

U kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa i u prvom i u drugom delu ogleda pH vrednost opala je više tokom perioda ispitivanja nego u nekontaminiranim uzorcima (grafikon 19 i grafikon 20). Ovaj pad može se pripisati prisustvu velikog broja bakterija mlečne kiseline i njihovom aktivnošću kao što je već opisano. U oba dela ogleda u svim uzorcima zabeležen je značajan porast pH vrednosti od dvanaestog do petnaestog dana skladištenja, što se objašnjava povećanim prisustvom baznih jedinjenja odnosno povišenim sadržajem ukupnog isparljivog azota.



**Grafikon 19.** Prosečna pH vrednost u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana



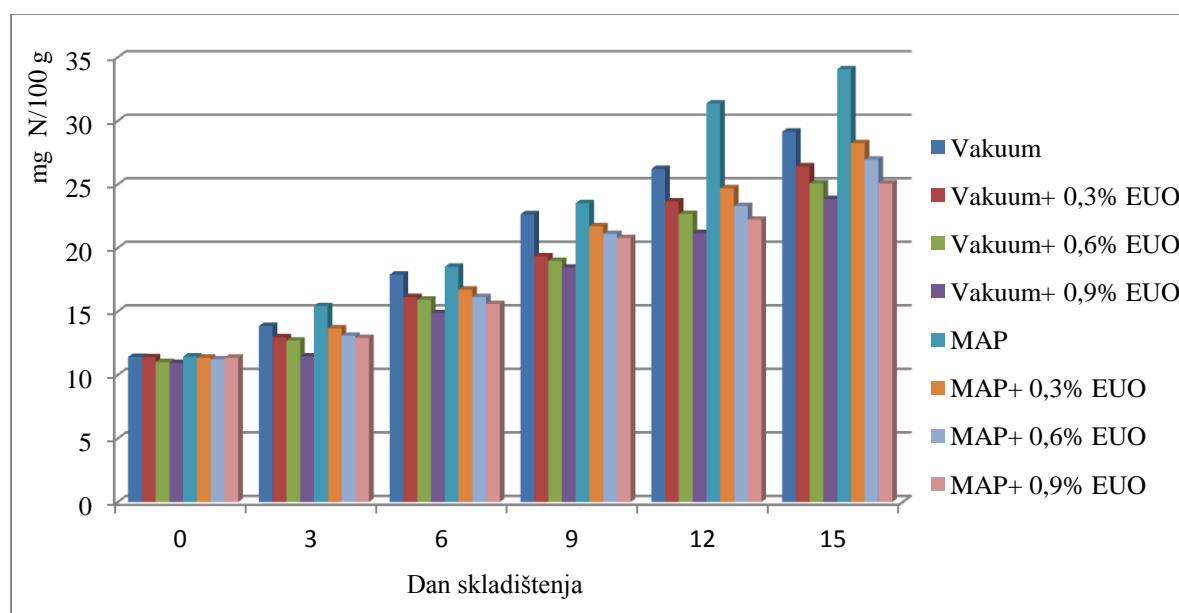
**Grafikon 20.** Prosečna pH vrednost u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana

## 6.7. Promena ukupnog isparljivog azota

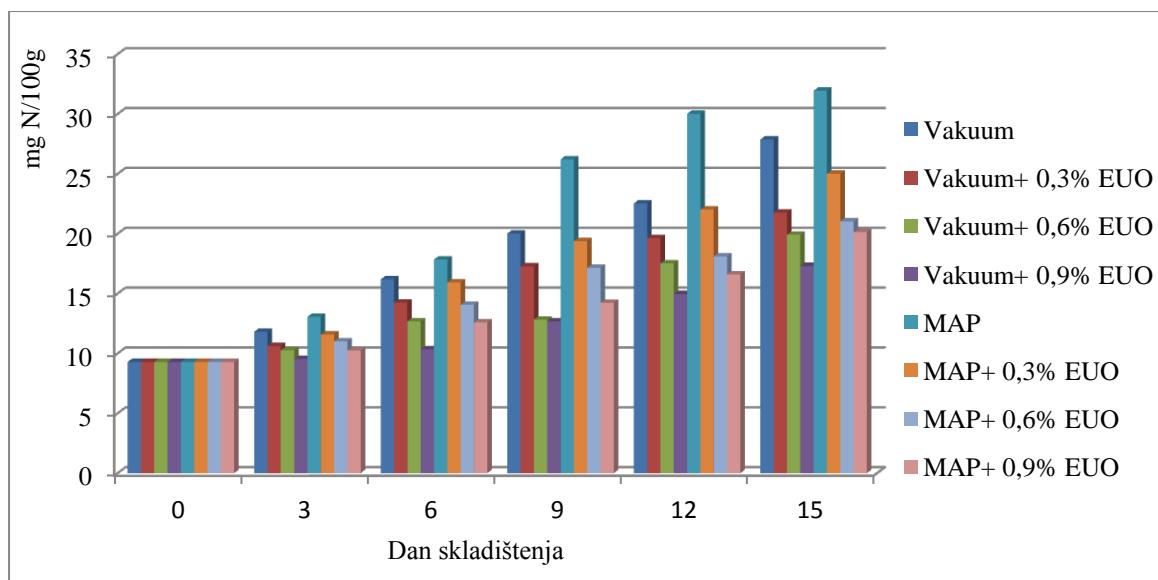
Ukupan isparljiv azot (TVB-N) je važan pokazatelj svežine mesa, uključujući i svinjsko meso (Liu i sar., 2012; Zhang i sar., 2016). Tokom skladištenja mesa do degradacije proteina dolazi uglavnom bakterijskom aktivnošću i delovanjem enzima, odnosno biohemimskim reakcijama što kao posledicu ima nastanak azotnih baznih jedinjenja (Huang i sar., 2014). Ukupan isparljiv azot se kod svinjskog mesa uglavnom sastoji iz amonijaka, trimetilamina i dimetilamina, a njegova količina se povećava tokom skladištenja (Cai i sar., 2011).

Početne količine ukupnog isparljivog azota u nekontaminiranim uzorcima mesa u prvom delu ogleda bile su između 10,94 i 11,42 mg N/100g (grafikon 21), što je u skladu sa vrednošću od oko 11 mg N/100g koju su Zhang i sar. (2016) zabeležili u svežem svinjskom mesu. Početna vrednost ukupnog isparljivog azota u nekontaminiranim uzorcima mesa u drugom delu ogleda kretala se između 9,28 i 9,29 mg N/100g (grafikon 22), a sličnu količinu ukupnog isparljivog azota (9,83 mg N/100g) u mlevenom svinjskom mesu prijavila je i Ivanović (2014). Tokom perioda skladištenja količina ukupnog isparljivog azota povećavala se u svim uzorcima tokom petnaestodnevног skladištenja. U ogledu u okviru ove doktorske disertacije uočeno je da su u uzorcima mesa u koja su dodata više koncentracije etarskih ulja količine ukupnog isparljivog azota bile niže, što se može objasniti antibakterijskim efektom etarskih ulja. Između bakterija kvara i količine TVB-N postoji pozitivna korelacija i vrednost

ukupnog azota raste sa povećanim brojem i aktivnošću bakterija, ali i aktivnošću endogenih enzima kvara (Fan i sar., 2009; Frangos i sar., 2010; Javani sar., 2015). I druga istraživanja potvrdila su da dodavanje etarskih ulja ima uticaj na suprimiranje i usporavanje rasta bakterija, što posledično dovodi do manjeg stvaranja ukupnog isparljivog azota. Zhang i sar. (2016) su našli slične početne koncentracije TVB-N u svinjskom mlevenom mesu (oko 11 mg N/ 100g), kao i njegov rast tokom perioda skladištenja. U njihovom ogledu ukupan isparljivi azot je tokom devetodnevног skladištenja na temperaturi od 4 °C u uzorcima bez dodatka etarskog ulja dostigao vrednost od oko 26 mg N/100g, dok je bio statistički značajno manji u uzorcima mesa u koje je dodato 0,1% etarskog ulja crnog bibera (približno 21 mg N/100g), a najniži u uzorcima u koje je dodato 0,5% etarskog ulja (približno 16 mg N/100g). Manju količinu ukupnog isparljivog azota našli su i Jouki i sar. (2014) u uzorcima fileta kalifornijske pastrmke sa dodatkom etarskog ulja origana i etarskog ulja timijana u poređenju sa kontrolnim uzorcima, Frangos i sar. (2010) u soljenim filetima pastrmke pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,2% i 0,4% etarskog ulja origana u poređenju sa uzorcima bez etarskog ulja. Kostaki i sar. (2009) zabeležili su da dodatak etarskog ulja timijana ima uticaj na ukupan isparljiv azot i njegove niže količine zabeležene su u filetima brancina pakovanim aerobno i u modifikovanu atmosferu u koje je dodato etarsko ulje timijana, u poređenju sa uzorcima pakovanim na isti način bez dodatka etarskog ulja.



**Grafikon 21.** Količina ukupnog isparljivog azota u nekontaminiranim uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu sa i bez dodatka etarskog ulja timijana

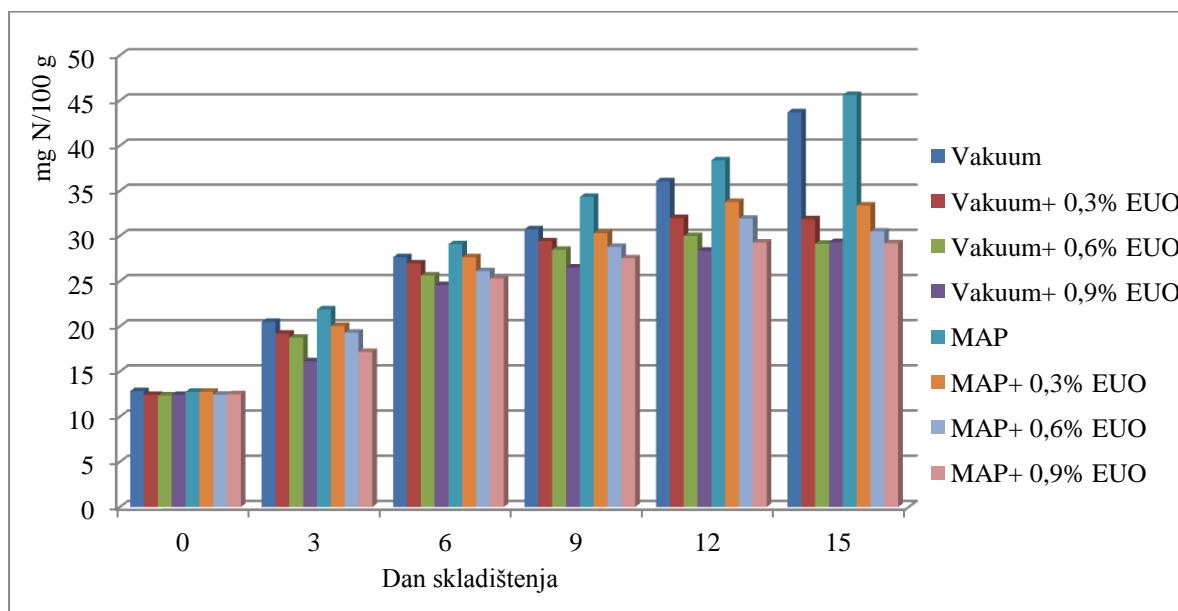


**Grafikon 22.** Količina ukupnog isparljivog azota u nekontaminiranim uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu sa i bez dodatka etarskog ulja origana

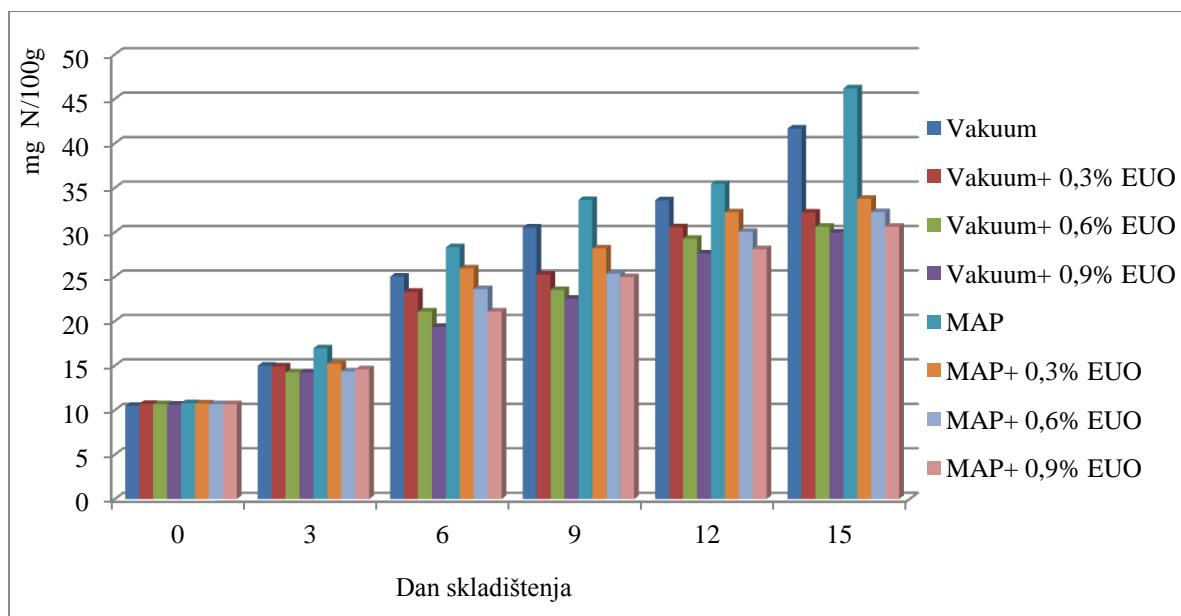
Na količinu ukupnog isparljivog azota uticao je i način pakovanje. U uzorcima pakovanim u vakuum količina ukupnog isparljivog azota bila je viša od količine ukupnog isparljivog azota u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu, što je u skladu sa većim brojem bakterija u uzorcima pakovanim u vakuum. Ivanović (2014) je dvanaestog dana ispitivanja utvrdila visoke količine ukupnog isparljivog azota u uzorcima pakovanim u vakuum (40,23 mg N/100g) i niže u uzorcima mlevenog svinjskog mesa pakovanom u modifikovanu atmosferu (37,64 mg N/100g, 38,39 mg N/100g). Ove vrednosti su više od onih prijavljenih u okviru ove doktorske disetracije, ali to je u skladu sa visokim ukupnim brojem bakterija koje je Ivanović (2014) našla već na početku perioda ispitivanja (iznad 7 log cfu/g). Više količine ukupnog isparljivog azota u mešanom mlevenom mesu u uzorcima pakovanim u vakuum u odnosu na uzorce pakovanim u modifikovanu atmosferu sa 30% i 50% CO<sub>2</sub> prijavila je i Lončina (2014), što je takođe u skladu sa rezultatima ove doktorske disertacije.

Granična vrednosti TVB- N za ocenu svežine svinjskog mesa u literaturnim podacima kreće se između 26 mg N/100 g (Byun i sar., 2003) i 30 mg N/ 100g (Connell, 1990). U prvom delu ogleda vrednost od 26 mg N/100 g zabeležen je u modifikovanoj atmosferi dvanaestog dana ispitivanja, a istog dana u uzorcima pakovanim u vakuum količina ukupnog isparljivog azota bila je iznad 30 mg N/100 g. U uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja, kao i u uzorcima sa doatkom 0,3% etarskog ulja timijana pakovanim u modifikovanu atmosferu, vrednost ukupnog isparljivog azota prešla je granicu od 26 mg N/100 g petnaestog dana ispitivanja, dok je u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu

sa dodatkom 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana i uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana količina ukupnog isparljivog azota bila ispod 26 mg N/100 g. U drugom delu ispitivanja količina ukupnog isparljivog prešla je 26 mg N/100 g devetog dana ispitivanja u uzorcima pakovanim u vakuum, i petnaestog dana u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu, dok je 30 mg N/100 g ukupnog isparljivog azota zabeležen u uzorcima pakovanim u vakuum dvanaestog dana ispitivanja. U ostalim uzorcima količina ukupnog isparljivog azota nije prešla 26 mg N/100 g. Ni u prvom ni u drugom delu ogleda u nekontaminiranim uzorcima količina ukupnog isparljivog azota nije prešla 30 mg N/100 g sem u uzorcima pakovanim u vakuum bez dodatka etarskih ulja. S druge strane u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima (grafikon 23 i grafikon 24) količina ukupnog isparljivog azota bila je viša u oba dela ogleda i na početku i na kraju ispitivanja, što je u skladu da zabeležinim višim brojem bakterija, i prešla je količinu od 26 ili 30 mg N/100 g u svim uzorcima u oba dela ogleda, a ranije u uzorcima bez dodatka etarskih ulja.



**Grafikon 23.** Količina ukupnog isparljivog azota u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu sa i bez dodatka etarskog ulja timijana



**Grafikon 24.** Količina ukupnog isparljivog azota u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima pakovanim u vakuum i modifikovanu atmosferu sa i bez dodatka etarskog ulja origana

## 6.8. Oksidativne promene u mesu

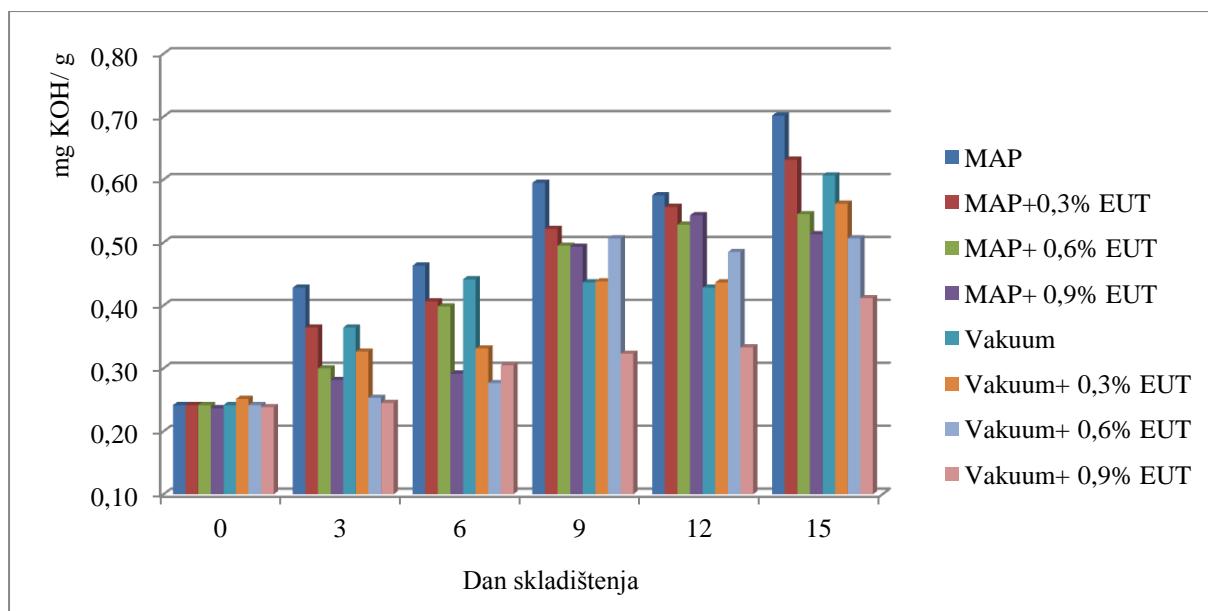
Lipidi podležu hemijskim reakcijama pre svega hidrolizi i peroksidaciji (Martín-Sánchez i sar., 2011). Efekat etarskog ulja timijana i origana na lipolizu i oksidaciju lipida u mesu utvrđen je na osnovu kiselinskog broja i TBK vrednosti.

### 6.8.1. Lipolitičke promene u mesu

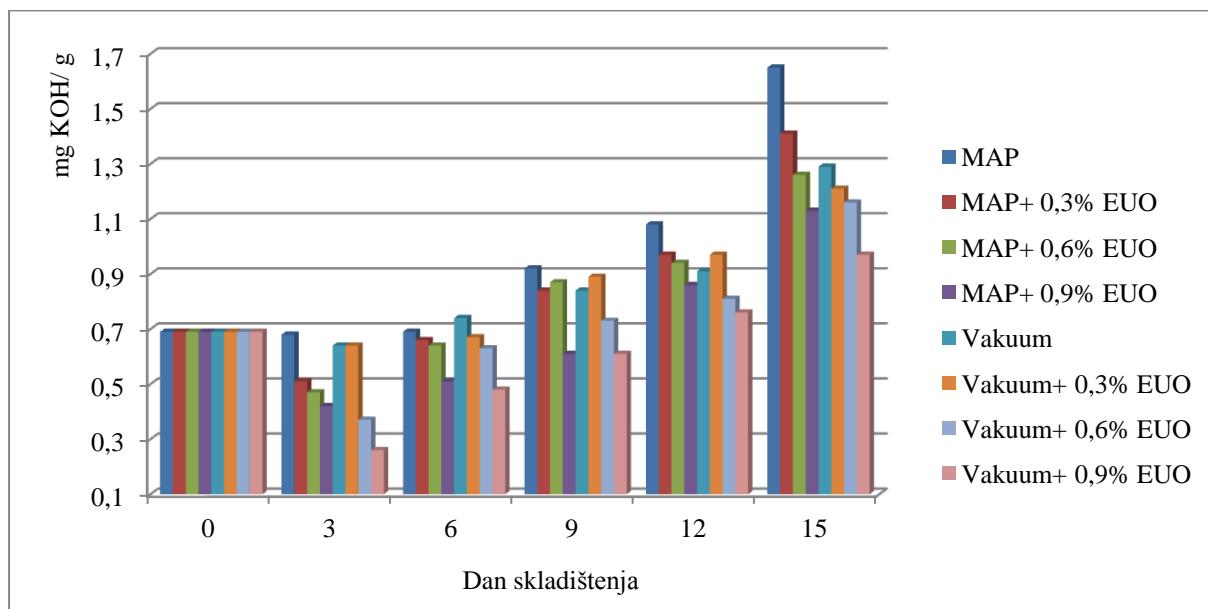
Lipoliza u mesu odvija se pod dejstvom endogenih enzima, mišićnih lipaza i fosfolipaza, ali može nastati i pod dejstvom egzogenih enzima kao što su bakterijske lipaze (Martín-Sánchez i sar., 2011; Vestergaard i sar., 2000). Kao posledica lipolize dolazi do pojave slobodnih masnih kiselina (Gandemer, 2002).

U ovom ogledu za procenu lipolize korišćen je kiselinski broj. Na početku skladištenja kiselinski broj nije se razlikovao među ispitivanim uzorcima ni u uzorcima mesa u prvom ni u drugom delu ogleda. Viši kiselinski broj zabeležen je na početku skladištenja u uzorcima tokom drugog dela ogleda i iznosio je 0,69 mg KOH/g (grafikon 26), dok je u prvom delu ogleda bio niži i kretao se između 0,24 i 0,25 mg KOH/g (grafikon 25).

Tokom skladištenja kiselinski broj je rastao u svim ispitivanim grupama, međutim, manji porast bio je zabeležen u uzorcima pakovanim u vakuum nego uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu.



**Grafikon 25.** Promene vrednosti kiselinskog broja u uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana



**Grafikon 26.** Promene vrednosti kiselinskog broja u uzorcima mlevenog mesa upakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Više vrednosti kiselinskog broja detektovane su u uzorcima mesa u koje je dodata manja koncentracija etarskog ulja timijana i origana, što ukazuje na višu koncentraciju slobodnih masnih kiselina u ovim uzorcima. Ovakav rezultat se može pripisati antibakterijskim osobinama etarskih ulja. Etarska ulja pokazuju određen antibakterijski i baktericidni efekat

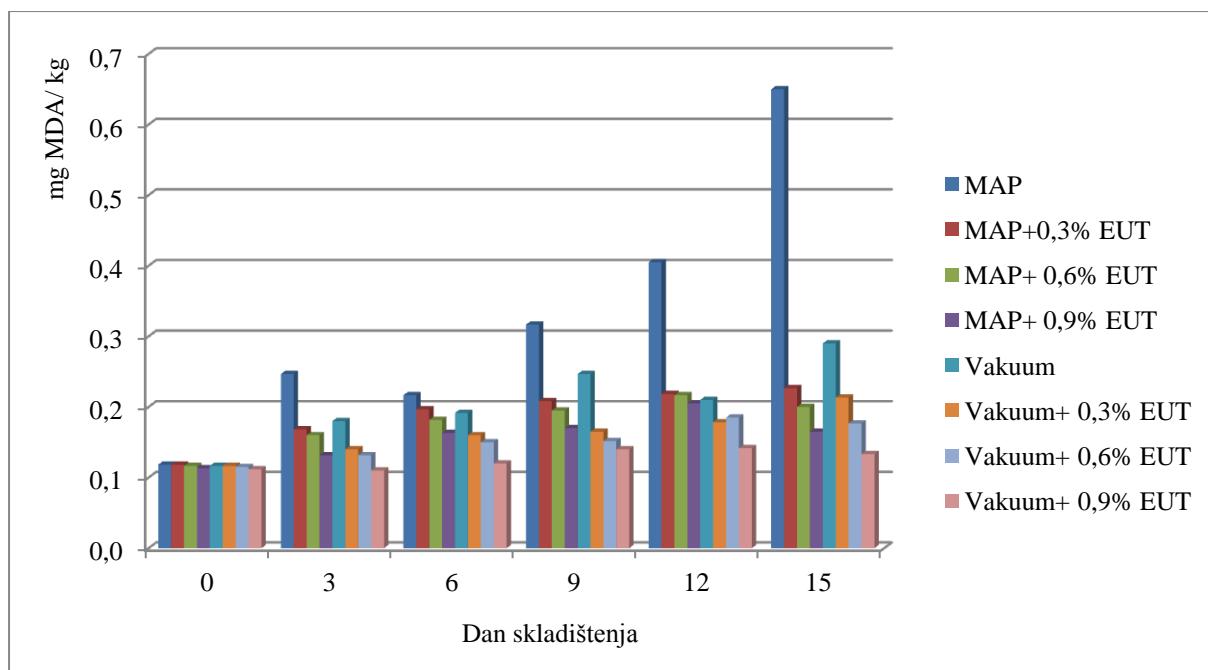
kada se primene u odgovarajućim koncentracijama (Burt, 2004). Na ovaj način moguće je ograničiti dejstvo bakterijskih lipaza na lipide mesa. Gheisari (2011) je dokazao postojanje pozitivne korelacije između TBK vrednosti i kiselinskog broja u mlevenom goveđem mesu skladištenog četiri dana na temperaturi od 4 °C. Ove vrednosti rasle su tokom skladištenja, što je u saglasnosti sa rezultatima iz sadašnje studije.

Ovaj parametar kao pokazatelj početka hidrolitičke degradacije lipida u mesu ne može se koristiti kao jedini indikator kvara mesa jer oksidativne promene ne prate uvek trend hidrolize masti, a njegov porast tokom čuvanja mesa je uobičajena pojava (Vranić i sar., 2012; Vuković i sar., 2012). Vrednost kiselinskog broja je u vezi sa sadržajem vode u mesu, koja doprinosi reakcijama hidrolize (Naz i sar., 2005; Vranić i sar., 2012). Takođe, niža pH vrednost utiče na smanjenje lipolize (Khaksar i sar., 2010; Vranić i sar., 2012; Lukić i sar., 2013), čime se može objasniti manji kiselinski broj u uzorcima pakovanim u vakuum.

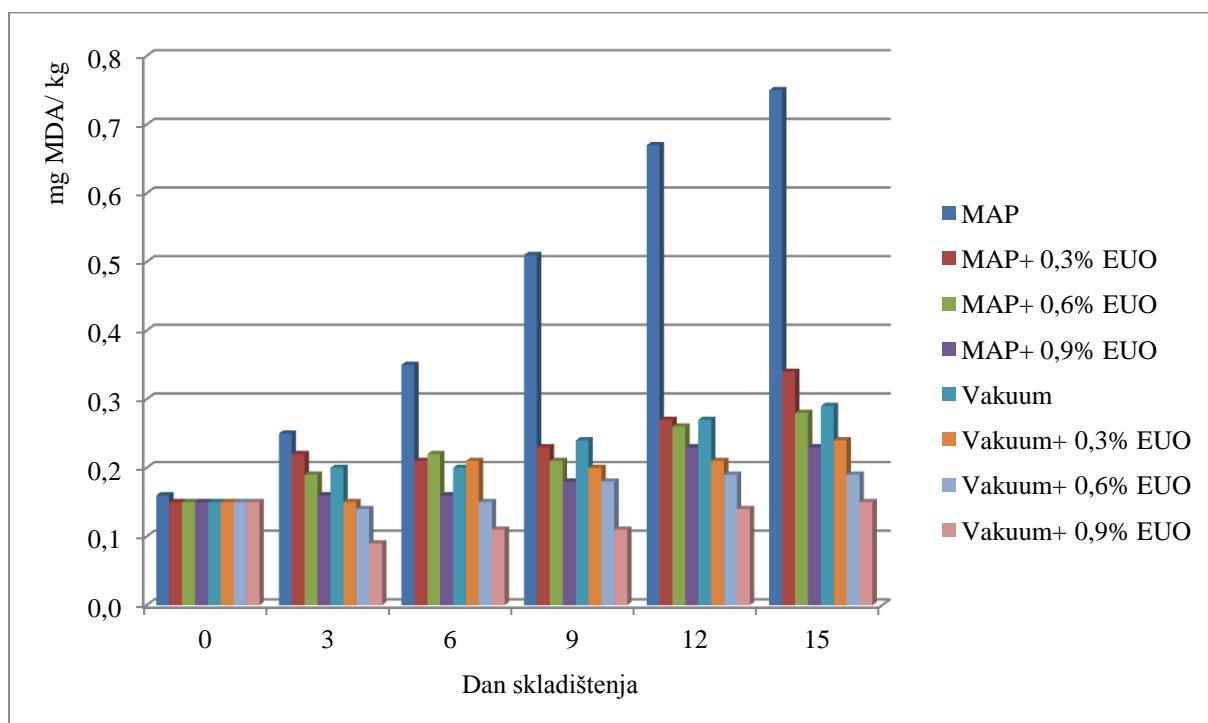
### **6.8.2. Oksidacija lipida u mesu**

Oksidacija lipida u mesu predstavlja jedan od glavnih limitirajućih faktora koji ima negativan uticaj na kvalitet i prihvativost mesa i proizvoda od mesa (Reza Gheisari i sar., 2009). Proizvodi peroksidacije polinezasićenih masnih kiselina ograničavaju period održivosti mesa i istovremeno predstavljaju opasnost po zdravlje potrošača (Chaijan, 2008; Min, 2006; Richards i sar., 2002). Malondialdehid (MDA) je glavni degradacioni proizvod lipidne oksidacije (Del-Rio i sar., 2005). Rezultati brojnih istraživanja pokazali su da je malondialdehid toksičan, genotoksičan, izaziva intracelularni okisdativni stres, utiče na pojavu kancera i ateroskleroze (Esterbauer, 1993; Tesoriere i sar., 2002; Del-Rio i sar., 2005; Okolie i sar., 2009; Duthie i sar., 2013). Dakle, konzumiranje hrane u kojoj je prisutan malondialdehid može da ima negativan uticaj na zdravlje (Okolie i sar., 2009).

U prvom delu ogleda gde je ispitivano etarsko ulje timijana količina malondialdehida kretala se između 0,11 i 0,12 mg MDA/kg (grafikon 27), dok je u drugom delu ogleda, prilikom koga je ispitivan uticaj etarskog ulja origana količina malondialdehida bila između 0,15 i 0,16 mg MDA/kg (grafikon 28). Meso u drugom delu ogleda imalo je veće količine malondialdehida od mesa u prvom delu ogleda, verovatno zbog više količine masnog tkiva u sirovini.



**Grafikon 27.** Promene TBK vrednosti u uzorcima mlevenog mesa upakovano u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana



**Grafikon 28.** Promene TBK vrednosti u uzorcima mlevenog mesa upakovano u vakuum i modifikovanu atmosferu, bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

Ni u prvom ni u drugom delu ogleda na početku ispitivanja, odnosno nultog dana, nisu uočene statistički značajne razlike između uzoraka pakovanih u vakuum i modifikovanu atmosferu sa i bez dodatka etarskog ulja timijana ili origana.

Ipak, tokom perioda skladištenja već od trećeg dana u oba dela ogleda, uočena je statistički značajna razlika između skoro svih tretman i načina pakovanja, tokom skoro svih dana skladištenja ( $P<0,01$  ili  $P<0,05$ ). Uzorci mesa u koja su dodata etarska ulja imala su značajno niži nivo oksidacije u poređenju sa mesom bez etarski ulja ( $P<0,01$ ;  $P<0,05$ ). Količina malondialdehida se smanjivala sa porastom dodate koncentracije etarskih ulja. Postoji više predloženih mehanizama kojima se može objasniti antoksidativna aktivnost etarskih ulja. Jedan od načina delovanja je doniranje elektrona i prekid faze propagacije (Falowo i sar., 2014). Drugi predloženi mehanizmi su sekvestriranje slobodnih radikala i vezivanje jona metala (Al-Mamary i sar., 2002; Viuda-Martos i sar., 2009).

Manje količine malondialdehida detektovane su u uzorcima pakovanim u vakuum. Razlog ovome je verovatno viša koncentracija kiseonika u uzorcima pakovanih u modifikovanoj atmosferi. U modifikovanoj atmosferi, kiseonik se dodaje da bi se sprečio rast anaerobnih bakterija, ali pre svega da bi se održala prihvatljiva boja mesa (Toldrá, 2010). Kiseonik održava mioglobin mesa u oksigenovanoj formi (oksimioglobin), koji daje mesu jarko crvenu boju (Martínez i sar., 2006). S druge strane, kiseonik reguje sa polinezasićenim masnim kiselinama u mesu i na taj način izaziva peroksidaciju (Min i Ahn, 2005). U ovom ogledu korišćeno je mleveno meso, a mlevenjem se prekida membrana mišićnih ćelija što olakšava pristup vazduha i inkorporaciju kiseonika u tkivo, zbog čega je mleveno meso podložnije procesima oksidacije (Martínez i sar., 2006; O'Grady i sar., 2000). U skladu sa prikazanim rezultatima su i rezultati Berruga i sar. (2005), koji pokazuju da pakovanje jagnjećeg mesa u vakuum smanjuje oksidaciju u poređenju sa mesom koje je pakovano u modifikovanu atmosferu (80%CO<sub>2</sub>/20% O<sub>2</sub>). Povećanje količine malondialdehida tokom petnaestodnevног ispitivanja sa 0,19 mg MDA/kg na 0,33 mg MDA/kg u uzorcima svinjskog mesa pakovanim u vakuum zabeležili su Lee i Jang (2013), što je u skladu sa promenama koje su zabeležene u okviru ove doktorske disertacije.

Količina malondialdehida povećavala se tokom perioda skladištenja. Petnaestog dana skladištenja u prvom delu ogleda, pad TBK je zabeležena u uzorcima mesa pakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatim koncentracijama etarskog ulja timijana 0,6% i 0,9% i uzorcima mesa pakovanih u vakuum sa dodatim etarskim uljem timijana u koncentraciji od 0,9%. Neznatni pad količine malondialdehida zabeležen je tokom skladištenja i u drugom delu ogleda u uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana

trećeg dana ispitivanja, u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja šestog dana ispitivanja i u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja i uzorcima pakovanim u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana devetog dana skladištenja. Ovaj pad TKB može biti posledica dekompozicije nestabilnog malondialdehida na organske kiseline i alkohole koji se ne mogu detektovati TBK testom (Fernandez i sar., 1997). Pad može biti uzrokovan interakcijom malondialdehida sa amino kiselinama, proteinima i glukozom (Fernandez i sar., 1997). Na kraju skladištenja, najviši TBK vrednosti zabeležene su u uzorcima mesa pakovanih u modifikovanu atmosferu u koje nije dodato etarsko ulje timijana ni origana, dok su najniže TBK vrednosti, koje su ostale skoro iste kao na početku skladištenja, zabeležene u uzorcima mesa pakovanih u vakuum u koje je dodato etarsko ulje timijana ili origana u koncentraciji od 0,9%.

Iako je veoma izučavano, u literaturi nema podataka o uticaju dodavanja etarskog ulja timijana na oksidativnu stabilnost svinjskog mesa. Viuda-Martos i sar. (2009) zabeležili su smanjenje lipidne okisdacije u bolonja kobasicama u koje je dodata 0,02% etarskog ulja timijana. Suprotno ovim i rezultatima iz sadašnje studije, rezultati koje su dobili Karabagias i sar. (2011) pokazali su da dodavanje etarskog ulja timijana (0,1%) nije imalo protektivan efekat i sprečilo oksidativne promene u jagnjećem mesu. Etarsko ulje timijana koje su oni koristili sadržalo je 54,55% timola i 19,29% karvakrola, odnosno višu koncentraciju fenolnih komponenti od etarskog ulja timijana korišćenog u sadašnjoj studiji. Ovakvi rezultati pokazuju da antioksidativna aktivnost etarskog ulja ne zavisi samo od koncentracije fenola. Razlika u rezultatima može se pripisati višim koncentracijama etarskog ulja timijana koje je korišćeno u sadašnjem ogledu. Takođe rezultati ispitivanja dejstva etarskih ulja u modelima hrane, pokazuju da se njihova efikasnost i bioaktivnost smanjuje usled interakcije sa komponentama hrane kao što su lipidi i proteini (Burt, 2004; Perricone i sar., 2015). Meso korišćeno u sadašnjoj studiji sadržalo je mali procenat masti, što je moglo da utiče na bolju efikasnost etarskog ulja. U skladu sa rezultatima ove doktorske disertacije rezultati do kojih su došli Sanjuás-Rey i sar. (2012) pokazala su da je etarsko ulje timijana ispoljilo inhibitorni efekat na lipidnu oksidaciju u lignjama, kao i da je koncentracija malondialdehida opadala сразмерno povećanju dodate koncentracije etarskog ulja timijana.

U literaturi postoji veliki broj radova čiji rezultati potvrđuju antioksidativni efekat dodatog etarskog ulja origana u različite vrste mesa. Fasseas i sar. (2007) su tokom dvanaestodnevног skladištenja na temperaturi od 4 °C prijavili značajno manju količinu malondialdehida u uzorcima svinjskog i goveđeg mesa u koje je dodato 3% etarskog ulja origana u poređenju sa kontrolnim uzorcima u koje nije dodato etarsko ulje. Istraživanje koje su sproveli Fernandes i

sar. (2016) pokazalo je da dodatak 1% etarskog ulja origana u burgere pravljenoj od ovčijeg mesa ima značajan efekat u prevenciji lipidne oksidacije. Tokom 20 dana skladištenja na temperature od 2 °C u uzorcima sa dodatkom etarskog ulja origana zabeležen je manji porast količine malondialdehida od uzoraka u koje je dodato BHA.

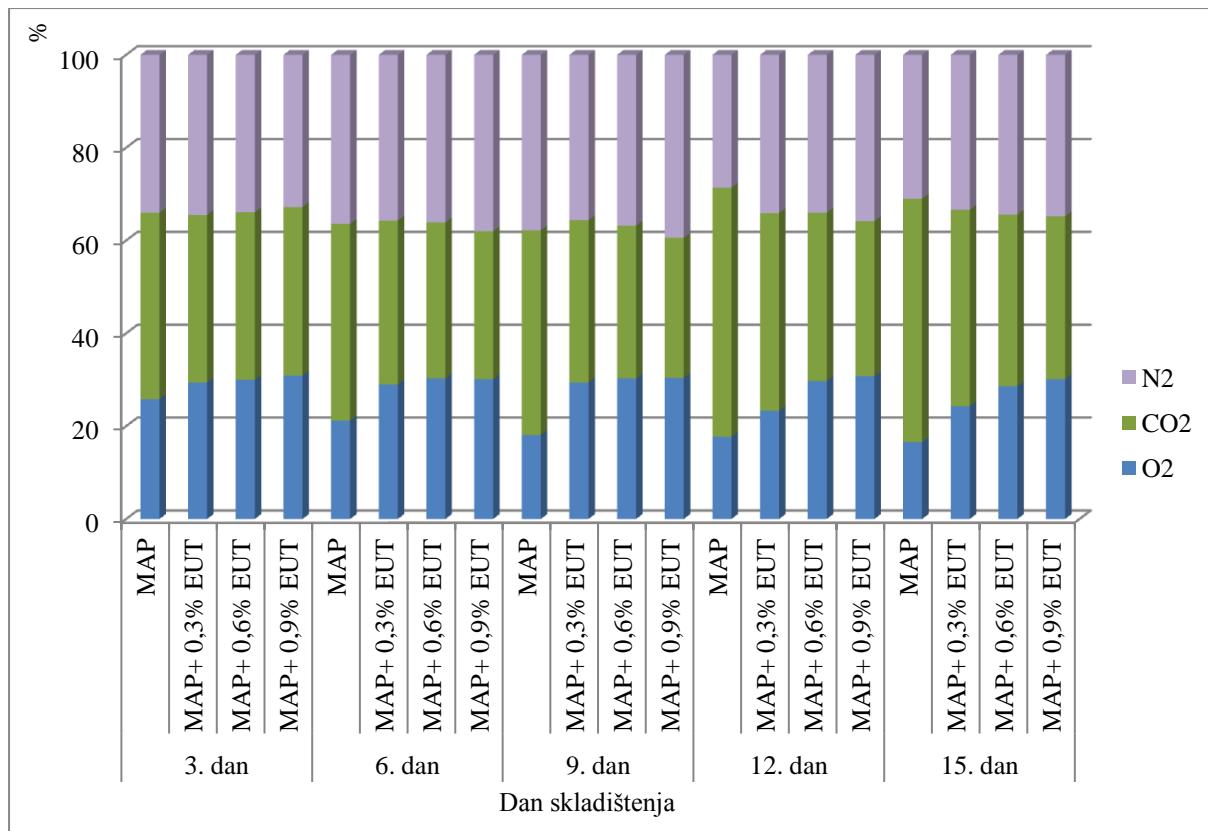
Ne postoji pravilnik, niti standard, kojim se propisuje maksimalno dozvoljena količina malondialdehida u mesu. U literaturi mogu se pronaći različiti podaci o količinama malondialdehida pri kojima se senzornom analizom mogu detektovati neprijatni mirisi i užeglost mesa. Rezultati istraživanja koje su sproveli Insausti i sar. (2001) pokazali su da se pri TBK vrednosti od 5 mg MDA/kg ili višoj od 5 mg MDA/kg detektuje oksidacija u goveđem mesu, dok su Campo i sar. (2006) našli da je maksimalna granica prihvatljivosti goveđeg mesa TBA vrednost 2 mg MDA/kg. Rippoll i Muñoz (2011) odredili su 1 mg MDA/kg kao nivo prihvatljivosti za jagnjeće meso. Dunshea i sar. (2005) predložili su da granica prihvatljivosti za svinjsko meso bude 0,5 mg MDA/kg, dok su Tarladgis i sar. (1960) prijavili da je TBA vrednost 0,5–1 maksimalna vrednost prihvatljivosti iznad koje trenirani ocenjivači senzornih osobina mogu da detektuju užeglost svinjskog mesa. U prvom delu ogleda prilikom koga je ispitivano etarsko ulje timijana zabeležen je nizak nivo oksidacije tokom petnaestodnevnog skladištenja i u svim uzorcima TBK vrednost bila je ispod 0,5 mg MDA/kg, osim u uzorcima mesa pakovanog u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja timijana gde je TBK vrednost na kraju skladištenja dostigla vrednost od 0,65 mg MDA/kg. Slično je zabeleženo i u drugom delu ogleda prilikom koga je ispitivano etarsko ulje origana. Iako su početne količine malondialdehida u ovom mesu na početku skladištenja bile više u poređenju sa mesom iz prvog dela ogleda, na kraju ispitivanja samo su uzorci pakovani u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskog ulja origana dostigla vrednost od 0,75 mg MDA/kg, dok je u ostalim uzorcima TBK vrednost bila je ispod 0,5 mg MDA/kg. U oba dela eksperimenta etarska ulja su pokazala značajan uticaj na smanjenja sekundarnih proizvoda oksidacije, dok su se kao najefektnije pokazale najviše koncentracije etarskih ulja.

## **6.9. Promena odnosa gasova u pakovanju**

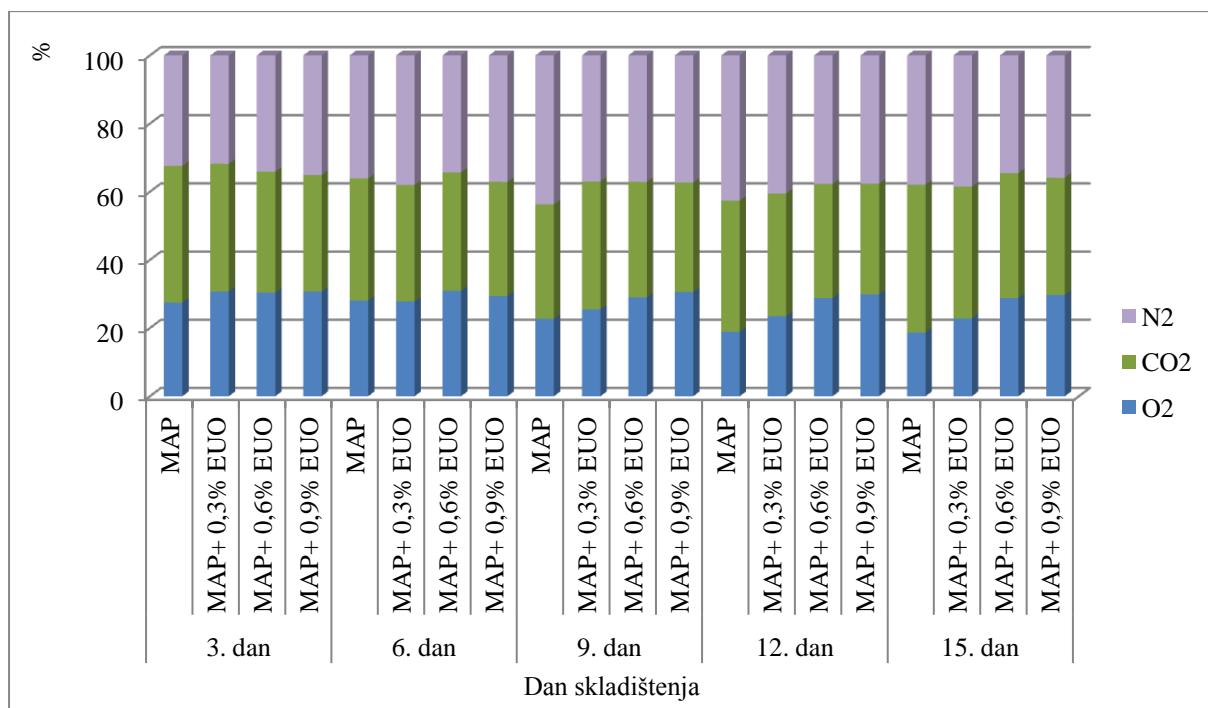
Pakovanje mesa u modifikovanoj atmosferi, kao što je pomenuto u poglavlju pregled literature, ima za cilj da produži održivost proizvoda, na šta pre svega utiče izbor i koncentracija dodatih gasova. Dodatak ugljen-dioksida ima za cilj da inhibira ili uspori rast patogenih i mikroorganizama kvara. Ovaj gas inhibira rast bakterija tako što onemogućava i odlaže unos hranljivih materija iz spoljašnje sredine od strane bakterija, produžava lag fazu i generacijsko vreme bakterija (Jeremiah, 2001). Mehanizam antimikrobnog delovanja ugljen-dioksida zasniva se na njegovoj penetraciji kroz zid bakterijske ćelije, brzom snižavanju pH vrednosti unutar ćelije koje remeti metabolizam, kao i inhibiciji ili smanjenju enzimske aktivnosti u bakterijskoj ćeliji (Cooksey, 2014). S druge strane dodatak kiseonika u modifikovanu atmosferu ima uticaj na održavanje jarko crvene boje sirovog mesa tako što održava pigment mioglobin u oksidovanom stanju tj. u formi oksimioglobina ( $\text{MbO}_2$ ) (Toldrá, 2010; Cooksey, 2014). Ipak pakovanje crvenog mesa u modifikovanu atmosferu sa visokom koncentracijom kiseonika ima za posledicu smanjenje oksidativne stabilnosti mesa (Kerry i sar., 2002; Toldrá, 2010). Imajući u vidu da svinjsko meso sadrži manje koncentracije mioglobina od goveđeg mesa (Boles i Pegg, 2010) i da je za održavanje boje ove vrste mesa potrebno manje kiseonika, u cilju održavanja boje, a smanjenja oksidativnih procesa u ogledu ove doktorske disertacije dodato je 30% kiseonika u modifikovanu atmosferu u kojoj su pakovani uzorci. Početne koncentracije gasova u modifikovanoj atmosferi koja je korišćena za pakovanje uzorka mlevenog svinjskog mesa bile su 50%  $\text{CO}_2$ /30%  $\text{O}_2/\text{N}_2$ , a odnos vulumena gasova i uzorka 2:1, što se i preporučuje zbog rastvaranja i apsorpције ugljen-dioksida (McMillin, 2008; Masniyom, 2014).

Odnos gasova koji se dodaju u modifikovanu atmosferu nije stalan i menja se tokom perioda skladištenja kao posledica respiracionih procesa samog mesa (mišića), ali i kao posledica metaboličkih procesa mikroorganizama (Han, 2005; Esmer i sar., 2011). Ugljen-dioksid je visoko rastvorljiv u sredinama sa visokim sadržajem vode i masti poput mesa, a njegova rastvorljivost raste sa sniženjem temperature (Cooksey, 2014), tako da se najveća količina ugljen-dioksida iz modifikovane atmosfere apsorbuje u vodenoj i lipidnoj frakciji mesa do postizanja ravnoteže, a njegov zaštitni efekat se postiže dodavanjem ovog gasa iznad nivoa zasićenja (McMillin, 2008) zbog čega je u ovom ogledu dodato 50% ugljen-dioksida. Postizanje zasićenja i apsorpција ugljen-dioksida od strane mesa dešava se u prva dva dana Ahvenainen (2003), kada se postiže ravnoteža, pa je u ogledu ovo smanjenje ugljen-dioksida uočeno trećeg dana ispitivanja u svim uzorcima mesa i u delu ogleda gde je ispitivano etarsko

ulje timijana (grafikon 29) i delu ogleda prilikom koga je ispitivano etarsko ulje origana (grafikon 30), a veće smanjenje u uzorcima u drugom delu ogleda tokom koga je ispitivano etarsko ulje origana može se objasniti većom količinom vode i masti u korišćenom mlevenom mesu. U literaturi se pominje da dodavanje viših koncentracija ugljen-dioksida rezultira i većom apsorpcijom ovog gasa, pa se uočavaju značajne razlike u koncentraciji ovog gasa u odnosu na koncentraciju na početku pakovanja (Jakobsen i Bertelsen, 2002; Ahvenainen, 2003), što je zabeleženo i u ogledu ove doktorske disertacije. Nakon postizanja zasićenja, bez obzira na dodatu koncentraciju etarskog ulja, koncentracija ugljen-dioksida se nije značajnije menjala do devetog dana nakon čega je rasla u svim uzorcima. Ovaj rast koncentracije ugljen-dioksida može se pripisati aktivnosti bakterija, poput bakterija mlečne kiseline koje proizvode ugljen-dioksid u metaboličkim procesima (Esmer i sar., 2011), a čiji rast je zabeležen u svim uzorcima tokom skladištenja tokom ogleda u ovoj doktorskoj disertaciji. U uzorcima u kojima su koncenteracije ugljen-dioksida bile više, zabeležen je i veći rast broja bakterija, pa je tako u uzorcima u kojima su dodata etarska ulja broj bakterija bio niži, a količina ugljen-dioksida viša. Najviše koncentracije ugljen-dioksida zabeležene su u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskih ulja, a najniža u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja. Smanjenje koncentracije kiseonika može se pripisati korišćenjem ovog gasa od strane aerobnih bakterija (Jeremiah, 2001) čiji je rast zabeležen u svim uzorcima, a najveći rast bio je zabeležen u uzorcima pakovanim u modifikovanu atmosferu bez dodatka etarskih ulja gde je zabeležen i najveći utrošak (pad) kiseonika. I drugi autori prijavili su sličnu dinamiku promene koncentracije gasova tokom skladištenja mesa u modifikovanoj atmosferi. Pad koncentracije ugljen-dioksida na početku skladištenja i njegov rast poslednjih dana ispitivanja, kao i konstantan pad kiseonika tokom ispitivanja zabeležili su i Irkin i sar. (2011) i Esmer i sar. (2011) u mlevenom govedem mesu pakovanom u modifikovanu atmosferu sa različitim koncentracijama ugljen-dioksida i kiseonika. Takođe, Esmer i sar. (2011) su zabeležili značajniji pad kiseonika u uzorcima mesa pakovanim u modifikovanoj atmosferi sa nižom koncentracijom kiseonika ( $O_2/CO_2/N_2:30/70/0$ ) u odnosu na uzorce gde su tokom pakovanja dodate više koncentracije kiseonika. O'Grady i sar. (2000) prijavili su da se veće promene u odnosu gasova tokom skladištenja mesa dešavaju u uzorcima koji su pakovani u modifikovanu atmosferu sa nižom koncentracijom ugljen-dioksida što je u skladu sa rezultatima ogleda ove doktorske disertacije.



**Grafikon 29.** Promena koncentracije i odnosa CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> i N<sub>2</sub> u modifikovanoj atmosferi uzoraka mlevenog mesa bez i sa dodatkom etarskog ulja timijana



**Grafikon 30.** Promena koncentracije i odnosa CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> i N<sub>2</sub> u modifikovanoj atmosferi uzoraka mlevenog mesa bez i sa dodatkom etarskog ulja origana

## **6.10. Senzorna ocena**

I pored antioksidativnih i antimikrobnih osobina koje poseduju etarska ulja, njihova upotreba u praksi je ograničena pre svega zbog njihovog efekta na organoleptičke osobine namirnica u koje se dodaju. I dok jedni rezultati ispitivanja pokazuju pozitivan efekat etarskih ulja na senzorne osobine, drugi pokazuju da je njihov uticaj na miris i ukus namirnica limitirajući faktor za njihovu upotrebu.

Iako su na početku skladištenja uzorci u koje je dodato etarsko ulje timijana imali nižu ocenu mirisa u poređenju sa uzorcima u koje nije dodato etarsko ulje timijana, na kraju skladištenja uzorci u koje je dodato etarsko ulje timijana u koncentraciji 0,3% bila su bolje ocenjena i iznad granice prihvatljivosti. Abdollahzadeh i sar. (2014) ispitivali su uticaj etarskog ulja timijana na senzorne osobine mlevenog ribljeg mesa. Trenirani ocenjivači ocenili su uzorke u koje je dodato etarsko ulje timijana u koncentraciji od 0,4% prihvatljivim, dok su uzorci u koje su dodata više koncentracije etarskog ulja (0,8% i 1,2%) bile ispod granice prihvatljivosti. U skladu sa rezultatima su i rezultati sadašnje studije gde je koncentracije etarskog ulja 0,3% bila prihvatljiva, koncentracija etarskog ulja od 0,6% ocenjena na granici prihvatljivosti, dok je miris uzoraka u koje je dodato 0,9% etarskog ulja timijana bio prejak i ocenjen kao neprihvatljivim već na početku ogleda. Iste koncentracije etarskog ulja timijana u svom ogledu koristili su Solomakos i sar. (2008). Rezultati njihovog ogleda pokazali su da je mleveno meso u koje je dodato 0,3% i 0,6% etarskog ulja timijana smatrano prihvatljivim, dok su uzorci sa dodatkom 0,9% etarskog ulja bili neprihvatljivi. Govaris i sar. (2010) prijavili su da je mleveno ovčije meso u koje je dodato 0,6% i 0,9% etarskog ulja origana bilo prihvatljivo sa organoleptičkog aspekta, iako su uzorci sa dodatkom niže koncentracije etarskog ulja, kao i u ogledu u okviru ove doktorske disertacije bile prihvatljivije i bile bolje ocenjene tokom senzorne analize. Fernandes i sar. (2016) pokazala su da je dodavanje etarskog ulja origana u količini od 1000 ppm preveniralo smanjenje senzornih osobina u mlevenom ovčjem mesu tokom petnaest dana skladištenja.

Pesavento i sar. (2015), ispitivali su uticaj 0,5%, 1% i 2% etarskog ulja origana na patogene bakterije u mlevenom goveđem oblikovanom mesu i našli da je nakon termičke obrade samo koncentracija 0,5% bila prihvatljiva sa senzornog aspekta u pogledu mirisa. Slično su našli i Chouliara i sar. (2007) koji su prijavili da uzorci grudi brojlera u koje je dodato etarsko ulje origana koncentraciji od 1% nije bilo prihvatljivo zbog intenzivnog mirisa, dok su uzorci pakovani u različitim uslovima sa dodatkom 0,1% etarskog ulja bili manje prihvatljivi od kontrolnih uzoraka na početku skladištenja, dok su na kraju skladištenja ocenjeni kao

prihvatljiviji u odnosu na kontrolne uzorke. Rezultati ispitivanja koja su sprovedli Atrea i sar. (2009) pokazala su da etarsko ulje origana dodato u koncentracijama od 0,2% i 0,4% u hobitnicu pakovanu u vakuum produžava održivost za 8, donosno 16 dana u poređenju sa kontrolnim uzorcima, kao i da su ove koncentracije etarskih ulja prihvatljive sa senzornog aspekta s tim što su uzorci u koje je dodato 0,2% etarskog ulja origana bilo prihvatljivije od uzoraka u koje je dodato 0,4% etarskog ulja.

Rezultati navedenih istraživanja pokazuju da su uzorci sa dodatkom etarskih ulja u nižim koncentracijama prihvatljiviji u pogledu mirisa od uzoraka sa dodatkom viših koncentracija, što je zabeleženo i u okviru ove doktorske disertacije.

Miris mesa je neraskidivo povezan sa ukusom mesa pa se često govori o aromi mesa. Čulo mirisa doprinosi čak 80% ukupnom doživljaju arome hrane prilikom obroka (McGinelly i sar., 2000; Ivanović i sar., 2012). Aroma sirovog svinjskog mesa je slabo izražena i razvija se tek tokom termičke obrade kada dolazi do formiranja volatilnih jedinjenja. Tokom skladištenja mesa, dolazi do oksidacije lipida i proteina u mesu i stvaranja jedinjenja koja utiču na senzorne osobine mesa. Od proizvoda oksidacije najveći uticaj na razvoj neprijatnog mirisa imaju aldehidi, pre svega heksanal koji se koristi kao indikator oksidacije (Hui, 2012). Etarska ulja deluju antimikrobno i antioksidativno pa je u uzorcima u kojima je dodato etarsko ulje manji broj bakterija i niži stepen oksidacije čime se može objasniti njihov prijatniji miris i veća prihvatljivost. S druge strane neka etarska ulja imaju intenzivan miris pre svega zbog prisustva karvakrola i timola, tako da se razlike u prihvatljivosti uzoraka u koja su dodata etarska ulja mogu pripisati različitom hemijskom sastavu etarskih ulja, kao i koncentracijama u kojima se dodaju.

Na kraju perioda ispitivanja boja uzoraka u koja su dodata etarska ulja bila je prihvatljivija u odnosu na boju uzoraka u koju nisu dodata etarska ulja, što se može objasniti manjim stepenom oksidativnih promena i bakterija u uzorcima sa dodatkom etarskih ulja, s obzirom na to da proizvodi okidacije i bakterijske aktivnosti dovode do diskoloracije, odnosno promene boje mesa. Takođe boja uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu bila je bolje ocenjena od boje uzoraka pakovanih u vakuum, što se objašnjava prisustvom kiseonika u modifikovanoj atmosferi koji održava mioglobin u formi mioglobina i daje mesu jarko crvenu boju (Martínez i sar., 2006).

Jedan od načina na koji se može smanjiti negativno dejstvo etarskih ulja na organoleptičke osobine mesa, pre svega na miris i ukus, jeste kombinovanje etarskih ulja sa drugim metodama konzervisanja (Ultee i sar., 2000). Tako npr. dodavanje nižih koncentracija etarskog ulja i kuhinjske soli (NaCl) može imati sinergistički efekat na mikrobiološki kvalitet

mesa istovremeno smanjivajući negativne efekte koje ovi konzervansi imaju na senzorne osobine i zdravlje kada se pojedinačno koriste u višim koncentracijama (Hayouni i sar., 2008). Van Haute i sar. (2016) pokazali su da pečenje povećava prihvatljivost mirisa mesa i ribe u koje su dodata etarska ulja, a ova pojava se delom objašnjava zbog volatilne prirode etarskih ulja, a delom zbog mešanja mirisa etarskog ulja sa mirisima samih komponenata mesa koje trpe henijske promene tokom topotne obrade. Ovi istraživači su došli do zaključka da je meso u koje je marinirano u marinadi u koje je dodato 1% etarskog ulja bilo organoleptički prihvatljivo i pre pečenja, dok je nakon pečenja bilo prihvatljivo i meso marinirano u 3% etarskog ulja koje u sirovom atanju nije bilo prihvatljivo.

Takođe, uticaj etarskih ulja na aromu mesa i namirnica uopšte može se sprečiti ili minimizirati njihovom nanoenkapsulacijom ili inkorporacijom u sisteme za pakovanje (Hyldgaard i sar., 2012; Bošković i sar., 2013).

## 7. ZAKLJUČCI

1. Hemijskom analizom etarskog ulja origana, odnosno timijana utvrđeno je po 16 različitih aktivnih komponenti, od kojih je u etarskom ulju origana najzastupljeniji bio karvakrol (77,16%), a u etarskom ulju timijana timol (50,48%), a zatim p-cymen (24,79%). Ostale aktivne komponente u oba ispitivana etarska ulja bile su manje zastupljene.
2. Etarsko ulje origana pokazalo je bolju sposobnost neutralizacije DPPH • radikala i bolju aktivnost u pogledu „hvatanja“ NO•, dok je etarsko ulja timijana pokazalo bolju aktivnost pri inhibiciji lipidne peroksidacije od etarskog ulja origana.
3. Oba etarska ulja inhibirala su rast ispitivanih *Salmonella* spp., pri čemu minimalne inhibitorne koncentracije nisu bile iste za sve serovarijetete. Etarsko ulje origana je imalo nižu minimalnu inhibitornu koncentraciju od etarskog ulja timijana za većinu ispitivanih *Salmonella* spp.
4. U svim grupama eksperimentalno kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa broj *Salmonella* spp. se smanjivao tokom ispitivanja i bio je statistički značajno manji kod uzoraka pakovanim u modifikovanoj atmosferi u odnosu na uzorke pakovane u vakuum, kao i kod uzoraka sa dodatom većom koncentracijom etarskih ulja.
5. U nekontaminiranim i kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum, sa i bez dodatog etarskog ulja, prosečan broj enterobakterija se statistički značajno smanjivao da bi posle 6. dana skladištenja došlo do statistički značajnog porasta prosečnog broja enterobakterija. Porast broja enterobakterija bio je izraženiji kod uzoraka pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum, bez dodatog etarskih ulja, kao i uzorcima mlevenog mesa sa dodatkom manjih količina etarskog ulja.  
Promena ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija, kao i bakterija mlečne kiseline u toku skladištenja uzoraka mlevenog mesa zavisila je od načina pakovanja (modifikovana atmosfera ili vakuum), dodate količine etarskog ulja (origano ili timijan) i toga da li se radilo o kontaminiranim ili nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa. Povećanje ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija, kao i bakterija mlečne kiseline, bilo je izraženije kod uzoraka pakovanih u vakuum i uzoraka sa manjim sadržajem dodatog etarskog ulja, kao i kod grupe kontaminiranih uzoraka u odnosu na analogne uzorke mlevenog mesa pakovane u modifikovanoj atmosferi. Na kraju skladištenja ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija, odnosno bakterija mlečne kiseline, u svim grupama uzoraka bio je statistički značajno veći u odnosu na nulti dan.

6. Prosečne vrednosti sadržaja vode, masti, proteina i pepela u uzorcima mlevenog mesa korišćenog u eksperimentu bile su karakteristične za ovu vrstu mesa.
7. Vrednost pH uzoraka mlevenog mesa pakovanih u modifikovanu atmosferu i vakuum, sa i bez dodatih etarskih ulja se u toku skladištenja smanjivala kod svih uzoraka i na kraju skladištenja bila statistički značajno manja u odnosu na nulti dan, a pad pH vrednosti bio je posebno izražen u uzorcima mlevenog mesa bez dodatka etarskih ulja.
8. Prosečan sadržaj ukupnog isparljivog azota rastao je u svim nekontaminiranim i eksperimentalno kontaminiranim uzorcima pakovanog mlevenog mesa i na kraju skladištenja bio statistički značajno veći u odnosu na nulti dan. Povećanje sadržaja ukupnog isparljivog azota bilo je izraženije kod uzoraka pakovanih u vakuum i uzoraka sa dodatkom nižih koncentracija etarskih ulja u odnosu na uzorke pakovane u modifikovanu atmosferu.
9. Prosečne vrednosti kiselinskog broja, kao i sadržaja malondialdehida su rasle u svim uzorcima mlevenog mesa tokom skladištenja, a bili su uglavnom statistički značajno veći na kraju skladištenja u odnosu na nulti dan. Prosečne vrednosti kiselinskog broja, odnosno prosečan sadržaj malondialdehida bili su statistički značajno manje u uzorcima mlevenog mesa pakovanim u vakuum, sa i bez dodatog etarskog ulja, u odnosu na uzorke mlevenog mesa pakovane u modifikovanu atmosferu sa i bez dodatih etarskih ulja.
10. Promene sadržaja gasova unutar pakovanja mlevenog mesa u modifikovanoj atmosferi zavisile su od količine dodatog etarskog ulja. Koncentracija kiseonika u uzorcima bez dodatka etarskih ulja se najviše smanjivala tokom skladištenja, a ugljendioksida povećala na kraju perioda ispitivanja, dok je tokom prva tri dana ispitivanja njegova koncentracija opala u svim uzorcima. Koncentracija azota u pakovanjima rasla je kod svih grupa uzoraka mlevenog mesa pakovanih u modifikovanoj atmosferi, i na kraju skladištenja bila ujednačena kod svih grupa uzoraka.
11. Prosečna senzorna ocena prihvatljivosti mirisa bila je početkom ispitivanja statistički značajno veća kod uzoraka bez dodatka etarskog ulja. Uzorci u koje su dodate najviše koncentracije etarskog ulja imali su jako izražen miris karakterističan za dodato ulje. U toku skladištenja prosečne senzorne ocene mirisa mesa kod svih grupa uzoraka bile su statistički značajno manje u odnosu na nulti dan ispitivanja, ali su još uvek bile iznad granice prihvatljivosti kod uzoraka sa dodatim nižim koncentracijama etarskog ulja. Prosečne senzorne ocene boje na početku ispitivanja bile su ujednačene, a u toku skladištenja su se smanjivale i u pojedinim slučajevima bile su statistički značajno manje, dok su kod uzoraka pakovanih u vakuum bez dodatka etarskih ulja bile najmanje prihvatljive na kraju perioda ispitivanja.

12. Pakovanje mlevenog mesa u modifikovanoj atmosferi ima prednosti u odnosu na pakovanje u vakuumu u pogledu bakteriološkog statusa, dok vakuum ima prednost u pogledu oksidativne stabilnosti mesa. Uzorci u kojima su dodata etarska ulja imali su niži broj bakterija i niži stepen oksidacije od uzorka bez dodatka etarskih ulja i sa porastom dodate koncentracije etarskog ulja smanjivao se broj bakterija i stepen oksidacije. Najniže koncentracije etarskih ulja bile su najprihvatljivije sa senzornog aspekta.

## 8. SPISAK LITERATURE

1. Abdollahzadeh, E., Rezaei, M., Hosseini, H. (2014). Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control*, 35(1), 177-183.
2. Acheson, D., Hohmann, E. L. (2001). Nontyphoidal salmonellosis. *Clinical Infectious Diseases*, 32(2), 263-269.
3. Adams MR, Moss MO. (2000). The microbiology of food preservation. In: Adams MR, Moss MO, editors. *Food microbiology*. 2 Ed. Royal Society of Chemistry. p. 110–14.
4. Adams MR, Moss MO. (2008). Food microbiology. 3 Ed. Royal Society of Chemistry.
5. Adams, K. R., Niebuhr, S. E., Dickson, J. S. (2015). Dissolved carbon dioxide and oxygen concentrations in purge of vacuum-packaged pork chops and the relationship to shelf life and models for estimating microbial populations. *Meat science*, 110, 1-8.
6. Agostoni, C., Decsi, T., Fewtrell, M., Goulet, O., Kolacek, S., Koletzko, B., ... & Shamir, R. (2008). Complementary feeding: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 46(1), 99-110.
7. Ahn, D., Lee, E. J., Mendonca, A. (2006). Meat decontamination by irradiation. In L. M. L. Nollet & F. Toldra (Eds.), *Advances technologies for meat processing* (p. 483). NY: Taylor & Francis Group.
8. Ahvenainen, R., (2003). Active and intelligent packaging: an introduction. In: Ahvenainen, R. (Ed.), *Novel Food Packaging Techniques*. Woodhead Publishing, Cambridge, U.K, pp. 5-21.
9. Aksu, M. I., Kaya, M. (2005). Effect of storage temperatures and time on shelf-life of sliced and modified atmosphere packaged Pastırma, a dried meat product, produced from beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(8), 1305-1312.
10. Alakomi, H. L., Saarela, M. (2009). *Salmonella* importance and current status of detection and surveillance methods. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 1(3), 142-152.
11. Al-Mamary, M., Al-Meeri, A., Al-Habori, M. (2002). Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, 22, 1041–1047.

12. Alban, L., Stärk, K.D.C., (2005). Where should the effort be put to reduce the *Salmonella* prevalence in the slaughtered swine carcass effectively? Preventive Veterinary Medicine 68, 63–79.
13. Althouse, C., Patterson, S., Fedorka-Cray, P., Isaacson, R. E. (2003). Type 1 fimbriae of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium bind to enterocytes and contribute to colonization of swine in vivo. *Infection and immunity*, 71(11), 6446-6452.
14. Aminzare, M., Aliakbarlu, J., Tajik, H. (2015). The effect of Cinnamomum zeylanicum essential oil on chemical characteristics of Lyoner-type sausage during refrigerated storage. In *Veterinary Research Forum* (Vol. 6, No. 1, p. 31). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
15. Angulo, F. J., Cahill, S. M., Wachsmuth, I. K., de Lourdes Costarrica, M., Embarek, P. K. B. (2008). Powdered infant formula as a source of *Salmonella* infection in infants. *Clinical infectious diseases*, 46(2), 268-273.
16. Angulo, F. J., & Swerdlow, D. L. (1999). Epidemiology of human *Salmonella enterica* serovar Enteritidis infections in the United States. In A. Saeed (Ed.), *Salmonella enterica* serovar enteritidis in humans and animals (pp. 33–41). (1st Edition). Ames, Iowa: Iowa State University Press.
17. Andritsos, N. D., Mataragas, M., Mavrou, E., Stamatiou, A., Drosinos, E. H. (2012). The microbiological condition of minced pork prepared at retail stores in Athens, Greece. *Meat science*, 91(4), 486-489.
18. Anoniman. 2012. Godišnji izveštaj. *Institut za javno zdravlje „Dr Milan Jovanović Batut“*.
19. Anoniman. 2013. Godišnji izveštaj. *Institut za javno zdravlje „Dr Milan Jovanović Batut“*.
20. Anoniman. 2014. Godišnji izveštaj. *Institut za javno zdravlje „Dr Milan Jovanović Batut“*.
21. Arii, J., Tanabe, Y., Miyake, M., Mukai, T., Matsuzaki, M., Niinomi, N., ... Noda, M. (2002). Clinical and pathologic characteristics of nontyphoidal salmonella encephalopathy. *Neurology*, 58(11), 1641-1645.
22. Argüello H., Carvajal A., Álvarez-Ordóñez A., Jaramillo-Torres A. H., Rubio P., (2014). Effect of logistic slaughter on *Salmonella* contamination on pig carcasses, Food Research International 55, 77–82.

23. Arnaut-Rollier, I., De Zutter, L., Van Hoof, J. (1999). Identities of the *Pseudomonas* spp.. in flora from chilled chicken. *International journal of food microbiology*, 48(2), 87-96.
24. Arthur, T. M., Bosilevac, J. M., Brichta-Harhay, D. M., Kalchayanand, N., King, D. A., Shackelford, S. D., et al. (2008). Source tracking of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* contamination in the lairage environment at commercial US beef processing plants and identification of an effective intervention. *Journal of Food Protection*, 71, 1752-1760.
25. Atrea, I., Papavergou, A., Amvrosiadis, I., Savvaidis, I. N. (2009). Combined effect of vacuum-packaging and oregano essential oil on the shelf-life of Mediterranean octopus (*Octopus vulgaris*) from the Aegean Sea stored at 4 C. *Food microbiology*, 26(2), 166-172.
26. Awaisheh, S. S. (2013). Efficacy of Fir and Qysoom essential oils, alone and in combination, in controlling *Listeria monocytogenes* in vitro and in RTE meat products model. *Food control*, 34(2), 657-661.
27. Aymerich, T., Picouet, P. A., Monfort, J. M. (2008). Decontamination technologies for meat products. *Meat Science*, 78(1), 114-129.
28. Bacon R. T., Sofos J. N., 2003. Food hazards: biological food; characteristics of biological hazards in foods, In R. H. Schmidt & G. Rodrick (Eds.), *Food Safety Handbook*. 04-712-10641 (pp. 157–195). New York, NY: Wiley Interscience.
29. Bacon, R. T., Sofos, J. N., Belk, K. E., Hyatt, D. R., Smith, G. C. (2002). Prevalence and antibiotic susceptibility of *Salmonella* isolated from beef animal hides and carcasses. *Journal of Food Protection.*, 65,284–290.
30. Baer, A. A., Miller, M. J., Dilger, A. C. (2013). Pathogens of interest to the pork industry: a review of research on interventions to assure food safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(2), 183-217.
31. Bagamboula, C. F., Uyttendaele, M., Debevere, J. (2004). Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food microbiology*, 21, 33-42.
32. Bailey, J., Stern, N., Fedorka-Cray, P., Craven, S., Cox, N., Cosby, D., et al. (2001). Sources and movement of *Salmonella* through integrated poultry operations: A multistate epidemiological Investigation. *Journal of Food Protection*, 64, 1690–1697.
33. Bajpai, V. K., Baek, K. H., Kang, S. C. (2012). Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: A review. *Food Research International*, 45, 722-734.

34. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
35. Baltić Ž. M., Nedić D., Đurić J., Dimitrijević M., Karabasil N., Kilibarda N., (2010). Food and everlasting concern about health, *Veterinary Journal of Republic of Srpska*, 10, 5, 5–10.
36. Baptista, F.M., Dahl, J., Nielsen, L.R., (2010). Factors influencing *Salmonella* carcass prevalence in Danish pig abattoirs. *Preventive Veterinary Medicine* 95, 231–238.
37. Barkocy-Gallagher, G. A., Arthur, T. M., Rivera-Betancourt, M., Nou, X., Shackelford, S. D., Wheeler, T. L., et al. (2003). Seasonal prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli*, including O157:H7 and non-O157 serotypes, and *Salmonella* in commercial beef processing plants. *Journal of Food Protection*, 66, 1978-1986.
38. Bassolé, I. H. N., Juliani, H. R. (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 17(4), 3989-4006.
39. Bauer, K., Garbe, D., Surburg, H. (2001). Common fragrance and flavor materials: Preparation, properties and uses. Weinheim: Wiley-VCH.
40. Baylis, C.L., 2006. Enterobacteriaceae. In: Blackburn, C.W. (Ed.), *Food Spoilage Microorganisms*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, pp. 624-667.
41. Bazargani-Gilani, B., Aliakbarlu, J., Tajik, H. (2015). Effect of pomegranate juice dipping and chitosan coating enriched with Zataria multiflora Boiss essential oil on the shelf-life of chicken meat during refrigerated storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 29, 280-287.
42. Betts, R. (2007). Water, water, everywhere nor any drop to drink—The problem of *Salmonella* in low-moisture foods. IAFP Special Interest Session on *Salmonella* growth, persistence and survival in low-moisture foods and their environment—Strategies for control. 94th IAFP Annual Meeting. 08.07.2007-11.07.2007. Buena Vista, Florida.
43. Berends, B., Van Knapen, F., Mossel, D., Burt, S., Snijders, J. (1998). *Salmonella* spp. on pork at cutting plants and at the retail level and the influence of particular risk factors. *International Journal of Food Microbiology* 44, 207–217.
44. Berjia, F. L., Poulsen, M., Nauta, M. (2014). Burden of diseases estimates associated to different red meat cooking practices. *Food and Chemical Toxicology*, 66, 237-244.
45. Berruga, M. I., Vergara, H., Gallego, L. (2005). Influence of packaging conditions on microbial and lipid oxidation in lamb meat. *Small Ruminant Research*, 57, 257-264.

46. Beatovic, D., Krstic-Milosevic, D., Trifunovic, S., Siljegovic, J., Glamoclijja, J., Ristic, M., Jelacic, S. (2015). Chemical Composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of twelve *Ocimum basilicum* L. cultivars grown in Serbia. *Rec Nat Prod*, 9, 62-75.
47. Benzie, I.F., Strain, J.J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”. The FRAP Assay. *Analytical biochemistry*, 239, 70–76.
48. Beuchat, L., Scouten, A., (2002). Combined effects of water activity, temperature and chemical treatments on the survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. *Journal of Applied Microbiology* 92, 382–395.
49. Bhan, M. K., Bahl, R., Bhatnagar, S. (2005). Typhoid and paratyphoid fever. *The Lancet*, 366(9487), 749-762.
50. Biesalski, H. K. (2005). Meat as a component of a healthy diet—are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet?. *Meat science*, 70(3), 509-524.
51. Biskup, I., Golonka, I., Gamian, A., Sroka, Z. (2013). Antioxidant activity of selected phenols estimated by ABTS and FRAP methods. *Postepy Hig. Med. Dosw*, 67, 958-963.
52. Blakistone, B. A. (1999b). Meats and poultry. In B. A. Blakistone (Ed.), Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods (pp. 240–290). Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers.
53. Blixt, Y., Borch, E. (2002). Comparison of shelf life of vacuum-packed pork and beef. *Meat Science*, 60(4), 371-378.
54. Bode, K., Baier, S., Blaha, T., 2007. Specific cleaning and disinfection procedures for *Salmonella* infected pig herds. In: Proceedings of the 13th International Congress in Animal Hygiene (ISAH), Tartu, Estonia, pp. 500–506.
55. Bolechowski, A., Moral, R., Bustamante, M. A., Bartual, J., Paredes, C., Pérez-Murcia, M. D., Carbonell-Barrachina, A. A. (2015). Winery-distillery composts as partial substitutes of traditional growing media: Effect on the volatile composition of thyme essential oils. *Scientia Horticulturae*, 193, 69-76.
56. Boles, J. A., Pegg, R. (2010). Meat color. *Montana State University and Saskatchewan Food Product Innovation, Program University of Saskatchewan*.
57. Bolton, D., Pearce, R., Sheridan, J., Blair, I., McDowell, D., Harrington, D., 2002. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and

- critical control point (HACCP) systems. *Journal of Applied Microbiology* 92, 893–902.
58. Bonne, K., Verbeke, W. (2008). Religious values informing halal meat production and the control and delivery of halal credence quality. *Agriculture and Human Values*, 25(1), 35-47.
59. Borch, E., Nesbakken, T., Christensen, H. (1996). Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. *International journal of food microbiology*, 30(1), 9-25.
60. Bosilevac, J. M., Guerini, M. N., Kalchayanand, N., Koohmaraie, M. (2009). Prevalence and characterization of salmonellae in commercial ground beef in the United States. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 1892–1900.
61. Bošković, M., Baltić, Z. M., Ivanović, J., Đurić, J., Lončina, J., Dokmanović, M., Marković, R. (2013a). Use of essential oils in order to prevent foodborne illnesses caused by pathogens in meat. *Tehnologija mesa*, 54, 14-20.
62. Bošković, M., Baltić, M., Janjić, J., Dokmanović, M., Ivanović, J., Marković, T., Marković, R. (2013b), Antimikrobnna aktivnost etarskih ulja na *Salmonella* spp. u mesu i proizvodima od mesa. *Lekovite sirovine*, 33, 39 – 52.
63. Marija, Bošković, Baltić Ž. Milan, Ivanović Jelena, Đurić Jelena, Dokmanović Marija, Marković Radmila, Šarčević Danijela, Baltić Tatjana. (2015). "Uticaj svinjskog mesa i mastiff na zdravlje ljudi." *Tehnologija mesa* 56(1), 8-15.
64. Boskovic, Marija, Nemanja Zdravkovic, Jelena Ivanovic, Jelena Janjic, Jasna Djordjevic, Marija Starcevic, and Milan Z. Baltic. "Antimicrobial activity of Thyme (*Tymus vulgaris*) and Oregano (*Origanum vulgare*) essential oils against some food-borne microorganisms." *Procedia Food Science* 5 (2015): 18-21.
65. Botteldoorn, N., Heyndrickx, M., Rijpens, N., Grijspeerdt, K., Herman, L. (2003). *Salmonella* on pig carcasses: Positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. *Journal of Applied Microbiology*, 95, 891–903.
66. Boughton, C., Leonard, F.C., Egan, J., Kelly, G., O'Mahony, P., Markey, B.K., Griffin, M. (2004). Prevalence and number of *Salmonella* in Irish pork sausages. *Journal of Food Protection*, 67, 9, 1834–1839.
67. Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., Anackov, G. (2006). Characterization of the volatile composition of essential oils of some *Lamiaceae* spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1822-1828.

68. Boyen, F., Haesebrouck, F., Maes, D., Van Immerseel, F., Ducatelle, R., Pas-mans, F. (2008). Non-typhoidal *Salmonella* infections in pigs: a closerlook at epidemiology, pathogenesis and control. *Vet. Microbiol.* 130,1–19.
69. Brands, D. A., Inman, A. E., Gerba, C. P., Maré, C. J., Billington, S. J., Saif, L. A., et al. (2005). Prevalence of *Salmonella* spp. in oysters in the United States. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 893–897.
70. Brenner, F. W.,A. C. McWhorter-Murlin. (1998). Identifcation and serotyping of *Salmonella*. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta,Ga.
71. Brenner, F. W., Villar, R. G., Angulo, F. J., Tauxe, R., Swaminathan, B. (2000). *Salmonella* nomenclature. *Journal of clinical microbiology*, 38(7), 2465-2467.
72. Brody, A. L. (1997). Packaging of food. In A. L. Brody K. S. Marsh (Eds.), The Wiley encyclopedia of packaging (2nd ed.). New York: Wiley (pp. 699–704).
73. Brown JH (1935) Theobald Smith 1859-1934. *J Bacteriol* 30:1-3.
74. Brown H., Williams J., (2003). In Food Packaging Technology (Vol. 5) Edited by Richard Coles, Derek McDowell, Mark J. Kirwan. CRC Press.
75. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie. *Phytochimie. Plantes medicinales*, París, Ed. Tec-Doc.
76. Bukovská, A., Cikoš, Š., Juhás, Š., Il'ková, G., Rehák, P., Koppel, J. (2007). Effects of a combination of thyme and oregano essential oils on TNBS-induced colitis in mice. *Mediators of inflammation*, 2007.
77. Bunčić, S., Sofos, J. (2012). Interventions to control *Salmonella* contamination during poultry, cattle and pig slaughter. *Food research international*, 45(2), 641-655.
78. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
79. Byun, J. S., Min, J. S., Kim, I. S., Kim, J. W., Chung, M. S., Lee, M. (2003). Comparison of indicators of microbial quality of meat during aerobic cold storage. *Journal of Food Protection*, 66(9), 1733-1737.
80. Cabedo, L., Barrot, L.P.I., Canelles, A.T.I. 2008. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in ready-to-eat food in Catalonia, Spain. *Journal of Food Protection*, 71, 4, 855–859.
81. Cai, J., Chen, Q., Wan, X., Zhao, J. (2011). Determination of total volatile basic nitrogen (TVB-N) content and Warner–Bratzler shear force (WBSF) in pork using Fourier transform near infrared (FT-NIR) spectroscopy. *Food Chemistry*, 126(3), 1354-1360.

82. Calo, Eliezer, Jose A. Quintero-Estades, Paul S. Danielian, Simona Nedelcu, Seth D. Berman, and Jacqueline A. Lees. "Rb regulates fate choice and lineage commitment in vivo." *Nature* 466, no. 7310 (2010): 1110-1114.
83. Cary, J. W., Linz, J. E., Bhatnagar, D. (Eds.). (1999). *Microbial foodborne diseases: Mechanisms of pathogenesis and toxin synthesis*. CRC Press.
84. Carrasco, E., Morales-Rueda, A., García-Gimeno, R. M. (2012). Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. *Food Research International*, 45(2), 545-556.
85. Casaburi, A., Piombino, P., Nychas, G. J., Villani, F., Ercolini, D. (2015). Bacterial populations and the volatileome associated to meat spoilage. *Food microbiology*, 45, 83-102.
86. Cascone, A. (2006). *Study and prevention of lipid oxidation in meat* (Doctoral dissertation, Università degli Studi di Napoli Federico II).
87. Campo, M. M., Nute, G. R., Hughes, S. I., Enser, M., Wood, J. D., Richardson, R. I. (2006). Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72, 303-311.
88. Casaburi, A., Piombino, P., Nychas, G. J., Villani, F., Ercolini, D. (2015). Bacterial populations and the volatileome associated to meat spoilage. *Food microbiology*, 45, 83-102.
89. Cayuela, J. M., Gil, M. D., Bañón, S., Garrido, M. D. (2004). Effect of vacuum and modified atmosphere packaging on the quality of pork loin. *European Food Research and Technology*, 219, 316–320.
90. Centers for Disease Control (2004). Outbreak of *Salmonella* serotype Enteritidis infection associated with raw almonds — United States and Canada, 2003–2004. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 53, 484–487.
91. Centers for Disease Control (2006). Multistate outbreak of *Salmonella* Typhimurium infections associated with eating ground beef—United States, 2004. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 50, 180–182.
92. Centers for Disease Control and Prevention (2009). Surveillance for foodborne disease outbreaks — United States, 2006. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 58(22), 609–615.
93. Centers for Disease Control and Prevention. (2011). Multistate outbreaks of *Salmonella* Typhimurium infections linked to ground beef. Retrieved from <http://www.cdc.gov/salmonella/typhimurium-groundbeef/index.html>.

94. Centers for Disease Control and Prevention, (2011). *Salmonella* outbreaks. <http://www.cdc.gov/salmonella/outbreaks.html> (accessed: September 2011).
95. Centers for Disease Control and Prevention. (2012). Multistate outbreaks of *Salmonella* Enteritidis infections linked to ground beef. Retrieved from <http://www.cdc.gov/salmonella/enteritidis-07-12/index.html>.
96. Centers for Disease Control and Prevention. (2013). Multistate outbreaks of *Salmonella* Typhimurium infections linked to ground beef. Retrieved from <http://www.cdc.gov/salmonella/typhimurium-01-13/>.
97. Cerveny, J., Meyer, J. D., Hall, P. A. (2009). Microbiological spoilage of meat and poultry products. In *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages* (pp. 69-86). Springer New York.
98. Chaijan, M. (2008). Review: Lipid and myoglobin oxidations in muscle foods. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 30, 47-53.
99. Chaix, E., Guillaume, C., Guillard, V. (2014). Oxygen and carbon dioxide solubility and diffusivity in solid food matrices: a review of past and current knowledge. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(3), 261-286.
100. Chambers, E. IV , J. Bowers. (1993). Consumer perception of sensory quality in muscle foods: Sensory characteristics of meat influence consumer decisions. *Food Technology* 47, 116 – 120.
101. Chao, G. X., Zhou, X. H., Jiao, X. N., Qian, X. Q., Xu, L. (2007). Prevalence and antimicrobial resistance of foodborne pathogens isolated from food products in China. *Foodborne Pathogens and Disease*, 4, 277–284.
102. Chen, S., Zhao, S. H., White, D. G., Schroeder, C. M., Lu, R., Yang, H. C., et al. (2004). Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Salmonella* serovars isolated from retail meats. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 1–7.
103. Chen, S., Cui, S., McDermott, P. F., Zhao, S., White, D. G., Paulsen, I., et al. (2007). Contribution of target gene mutations and efflux to decreased susceptibility of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium to fluoroquinolones and other antimicrobials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51, 535–542.
104. Chen, W., Jin, T. Z., Gurtler, J. B., Geveke, D. J., Fan, X. (2012). Inactivation of *Salmonella* on whole cantaloupe by application of an antimicrobial coating containing chitosan and allyl isothiocyanate. *International journal of food microbiology*, 155(3), 165-170.

105. Chen, J. H., Ren, Y., Seow, J., Liu, T., Bang, W. S., Yuk, H. G. (2012). Intervention technologies for ensuring microbiological safety of meat: current and future trends. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 119-132.
106. Cheung, P. Y., Kam, K. M. (2012). *Salmonella* in food surveillance: PCR, immunoassays, and other rapid detection and quantification methods. *Food Research International*, 45(2), 802-808.
107. Chironna, M., Tafuri, S., Gallone, M. S., Sallustio, A., Martinelli, D., Prato, R., Germinario, C. (2014). Outbreak of *Salmonella* infantis gastroenteritis among people who had eaten at a hash house in southern Italy. *Public health*.
108. Chizzolini, R., Zanardi, E., Dorigoni, V., Ghidini, S. (1999). Calorific value and cholesterol content of normal and low-fat meat and meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 10(4), 119-128.
109. Choi, Y. M., Park, H. J., Jang, H. I., Kim, S. A., Imm, J. Y., Hwang, I. G., Rhee, M. S. (2013). Changes in microbial contamination levels of porcine carcasses and fresh pork in slaughterhouses, processing lines, retail outlets, and local markets by commercial
110. Choubert, G., Brisbarre, F., Parfouru, D., Baccaunaud, G., 2008. Argon modified atmosphere packaging for fillets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed astaxanthin or canthaxanthin. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 17, 117-136.
111. Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I. N., Kontominas, M. G., 2007. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4 °C. *Food Microbiology* 24, 6, 607-617.
112. Clark, D. S., Lentz, C. P. (1969). The effect of carbon dioxide on the growth of slime producing bacteria on fresh beef. *Canadian Institute of Food Technology Journal*, 2(2), 72-75.
113. Cliver, D. O., Potter, M., Riemann, H. P. (2011). *Foodborne infections and intoxications*. Academic Press.
114. Cliver, D. O., Riemann, H. (Eds.). (2002). *Foodborne diseases*. Gulf Professional Publishing.
115. CLSI, (1999). Clinical and Laboratory Standards Institute Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents; Approved Guideline., Volume 19 Number 18. CLSI publication M26-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

116. CLSI, (2006). Clinical and Laboratory Standards Institute Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard, 7th ed. CLSI publication M07-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
117. Cogan, T. A., Humphrey, T. J. (2003). The rise and fall of *Salmonella Enteritidis* in the UK. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 114–119.
118. Coles, R., McDowell, D., Kirwan, M. J. (Eds.). (2003). *Food packaging technology* (Vol. 5). CRC Press.
119. Connell, J. J. (1990). Methods of assessing and selecting for quality. In J. J. Connell (Ed.), Control of fish quality (3rd ed., pp. 122–150). Oxford: Fishing News Books.
120. Connor, B. A., Schwartz, E. (2005). Typhoid and paratyphoid fever in travellers. *The Lancet infectious diseases*, 5(10), 623-628.
121. Contini, C., Álvarez, R., O'Sullivan, M., Dowling, D. P., Gargan, S. Ó., Monahan, F. J. (2014). Effect of an active packaging with citrus extract on lipid oxidation and sensory quality of cooked turkey meat. *Meat science*, 96, 1171-1176.
122. Cooksey K., 2014. Modified Atmosphere Packaging of Meat, Poultry and Fish. In: Jung H. Han (Ed.), Elsevier, Innovations in Food Packaging (Second Edition), pp. 475-493.
123. Cornforth, D., Hunt, M., 2008. Low-Oxygen Packaging of Fresh Meat with Carbon Monoxide: Meat Quality, Microbiology, and Safety. American Meat Science Association, Savoy, IL, AMSA White Paper Series, No 2.
124. Cosansu, S., Ayhan, K. (2012). Effects of lactic and acetic acid on survival of *Salmonella enteritidis* during refrigerated and frozen storage of chicken meats. *Food and bioprocess technology*, 5(1), 372-377.
125. Crosa, J. H., Brenner, D. J., Ewing, W. H., & Falkow, S. (1973). Molecular relationships among the *Salmonelleae*. *Journal of bacteriology*, 115(1), 307-315.
126. Crosthwaite, D. (1998). UK trade within the flavour and fragrance industry. In *International Federation of Essential Oils and Aroma Trades—21st International Conference on Essential Oils and Aroma's. IFEAT, London* (pp. 6-12).
127. Cosgrove, M., Flynn, A., Kiely, M. (2005). Consumption of red meat, white meat and processed meat in Irish adults in relation to dietary quality. *British Journal of Nutrition*, 93(06), 933-942.

128. Cushen M, Kerry J, Morris M, Cruz-Romero M, Cummins E. (2012) Nanotechnologies in the food industry – Recent developments, risks and regulation, *Trends in Food Science & Technology*, 24(1), 30-46.
129. Cutter, C. N. (2000). Antimicrobial effect of herb extracts against *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* associated with beef. *Journal of Food Protection*, 63(5), 601-607.
130. Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C. (1992). Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 56, 324-325.
131. D'Aoust, J. Y. (1991). Pathogenicity of foodborne *Salmonella*. *International Journal of Food Microbiology*, 12(1), 17-40.
132. Dainty, R. H. (1996). Chemical/biochemical detection of spoilage. *International journal of food microbiology*, 33(1), 19-33.
133. Dalle Zotte, A., Cullere, M., Sartori, A., Dal Bosco, A., Gerencsér, Z., Matici, Z., ... Szendrő, Z. (2014). Effect of dietary supplementation of spirulina (*Arthrospira platensis*) and thyme (*Thymus vulgaris*) on carcass composition, meat physical traits, and vitamin B12 content on growing rabbits. *World Rabbit Science*, 22, 11-19.
134. Dalton, C. B., Gregory, J., Kirk, M. D., Stafford, R. J., Givney, R., Kraa, E., et al. (2004). Foodborne disease outbreaks in Australia, 1995 to 2000. *Communicable Diseases Intelligence*, 28, 211–224.
135. Damar, S., Balaban, M. O. (2006). Review of dense phase CO<sub>2</sub> technology: Microbial and enzyme inactivation, and effects on food quality. *Journal of Food Science*, 71(1), 1–11.
136. Dave, D., Ghaly, A. E. (2011). Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: a critical review. *American Journal of Agricultural and Biological Science*.
137. De Busser, E. V., De Zutter, L., Dewulf, J., Houf, K., Maes, D. (2013). *Salmonella* control in live pigs and at slaughter. *The Veterinary Journal*, 196(1), 20-27.
138. De Falco, E., Roscigno, G., Landolfi, S., Scandolera, E., Senatore, F. (2014). Growth, essential oil characterization, and antimicrobial activity of three wild biotypes of oregano under cultivation condition in Southern Italy. *Industrial Crops and Products*, 62, 242-249.

139. De Flora, S., Ramel, C. (1988). Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. Classification and overview. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 202(2), 285-306.
140. De Jong, B., Ekdahl, K. (2006). The comparative burden of salmonellosis in the European Union member states, associated and candidate countries. *BMC Public Health*, 6(1), 4.
141. de Oliveira, T. L. C., de Araújo Soares, R., Piccoli, R. H. (2013). A Weibull model to describe antimicrobial kinetics of oregano and lemongrass essential oils against *Salmonella Enteritidis* in ground beef during refrigerated storage. *Meat science*, 93(3), 645-651.
142. De Reu, K., Grijspeerdt, K., Messens, W., Heyndrickx, M., Uyttendaele, M., Debevere, J., et al. (2006). Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. *International Journal of Food Microbiology*, 112, 3, 253-260.
143. Delhalle, L., Saegerman, C., Farnir, F., Korsak, N., Maes, D., Messens, W., De Sadeleer, L., De Zutter, L., Daube, G., (2009). *Salmonella* surveillance and control at post-harvest in the Belgian pork meat chain. *Food Microbiology* 26 (3), 265–271.
144. Del Rio, D., Stewart, A. J., Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15, 316-328.
145. Desmond, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat science*, 74(1), 188-196.
146. Dewick, P. M. (2002). *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. John Wiley & Sons.
147. Dixon, N. M., Kell, D. B. (1989). The inhibition by CO<sub>2</sub> of the growth and metabolism of micro-organisms. *Journal of Applied Bacteriology*, 67(2), 109-136.
148. Djordjevic J., Bošković M., Dokmanović M., Branković Lazić I., Ledina T., Suvajdžić B., Baltić Ž.M., (2015). Vacuum and modified atmosphere packaging effect on enterobacteriaceae behaviour in minced meat, *Journal of Food Processing and Preservation*, in press, doi:10.1111/jfpp.12837.
149. Donsì, F., Annunziata, M., Sessa, M., Ferrari, G. (2011). Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT-Food Science and Technology*, 44(9), 1908-1914.

150. Dorman, H. J. D., Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.
151. Doulgeraki, A. I., Paramithiotis, S., Kagkli, D. M., Nychas, G. J. E. (2010). Lactic acid bacteria population dynamics during minced beef storage under aerobic or modified atmosphere packaging conditions. *Food microbiology*, 27(8), 1028-1034.
152. Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F., Nychas, G. J. E. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International journal of food microbiology*, 157(2), 130-141.
153. Doyle, M. E., Mazzotta, A. S. (2000). Review of studies on the thermal resistance of *Salmonellae*. *Journal of Food Protection*, 63(6), 779-795.
154. Doyle, M. P., Erickson, M. C. (2006). Emerging microbiological food safety issues related to meat. *Meat Science*, 74(1), 98-112.
155. Du, M., McCormick, R. J. (Eds.). (2009). Applied muscle biology and meat science. CRC Press.
156. Duffy, E., Belk, K., Sofos, J., Bellinger, G., Pape, A., Smith, G., (2001). Extent of microbial contamination in United States pork retail products. *Journal of Food Protection*, 64, 172–178.
157. Duggan, S. J., Mannion, C., Prendergast, D.M., Leonard, N., Fanning, S., Gonzales-Barron, U., et al. (2010). Tracking the *Salmonella* status of pigs and pork from lairage through the slaughter process in the Republic of Ireland. *Journal of Food Protection*, 73, 2148–2160.
158. Dunshea, F. R., D'souza, D. N., Pethick, D. W., Harper, G. S., Warner, R. D. (2005). Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. *Meat Science*, 71, 8-38.
159. Duthie, G., Campbell, F., Bestwick, C., Stephen, S., Russell, W. (2013). Antioxidant effectiveness of vegetable powders on the lipid and protein oxidative stability of cooked turkey meat patties: Implications for health. *Nutrients*, 5, 1241–1252.
160. Eblen, D. R., Barlo, K. E., Naugle, A. L. (2006). U.S. Food Safety and Inspection Service testing for *Salmonella* in selected raw meat and poultry products in the United States, 1998 through 2003: An establishment-level analysis. *Journal of Food Protection*, 69, 2600–2606.
161. Eddicks, M., Palzer, A., Hormansdorfer, S., Ritzmann, M., Heinritzi, K., 2009. Examination of the compatibility of a *Salmonella* Typhimurium-live vaccine

Salmoporc \_ for three day old suckling piglets. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 116, 249–254.

162. EFSA. (2005). Opinion of the Scientific Panel on biological hazards (BIOHAZ) related to the Microbiological risks on washing of Table Eggs. EFSA Journal, 269, 1–39.
163. EFSA, (2006). Opinion of the scientific panel on biological hazards on "Risk assessment and mitigation options of *Salmonella* in pig production". The EFSA Journal, 341, 1-131.
164. EFSA, (2006). Opinion of the scientific panel on biological hazards on the request from the commission related to "Risk assessment and mitigation options of *Salmonella* in pig production". The European Food Safety Authority Journal 341, 1–131.
165. EFSA. (2007). The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial resistance and Foodborne outbreaks in the European Union in 2006. EFSA Journal, 130, 2-352
166. EFSA (2007) Report on evaluation of the community reporting system for food-borne outbreaks under Directive 2003/99/EC. The EFSA Journal, 131,140.
167. EFSA, (2008a). Report of the task force on zoonoses data collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs, part A. The European Food Safety Authority Journal 135, 1–111.
168. EFSA, (2008b). Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from the European Commission on a quantitative microbiological risk assessment on *Salmonella* in meat: source attribution for human salmonellosis from meat. The European Food Safety Authority Journal 625, 1–32.
169. EFSA, (2009). Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in holdings with breeding pigs, in the EU, 2008, Part A: *Salmonella* prevalence estimates. The European Food Safety Authority Journal 7 (12). <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1377> 93 pp., Available online: [www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu).
170. EFSA, & ECDC (2009). The community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in the European Union in 2007. The EFSA Journal, 223,1–215.

171. European Food Safety Authority (EFSA), 2010. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in the European Union in 2008. EFSA Journal 8, 1, 1496.
172. EFSA (2013). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. European Food Safety Authority Journal, 2013(11), 3129.
173. EFSA (2014) Panel on Biological Hazards, 2014. Scientific Opinion on the public health risks related to the maintenance of the cold chain during storage and transport of meat. Part 2 (minced meat from all species). EFSA Journal 2014;12(7):3783, 30 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3783
174. Enser, M., Hallett, K., Hewitt, B., Fursey, G. A. J., Wood, J. D. (1996). Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pork at retail. *Meat Science*, 42(4), 443-456.
175. Egan, A. F. (1983). Lactic acid bacteria of meat and meat products. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49 (3), 327-336.
176. Ehivet, F. E., Min, B., Park, M. K., Oh, J. H. (2011). Characterization and Antimicrobial Activity of Sweetpotato Starch-Based Edible Film Containing Origanum (*Thymus capitatus*) Oil. *Journal of Food Science*, 76, 178-184.
177. El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E. A., Casabianca, H., ... & Elaissari, A. (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International journal of pharmaceutics*, 483(1), 220-243.
178. El-Gendy, N. M., Ibrahim, H. A., Al-Shabasy, N. A., Samaha, I. A. (2014). *Enterobacteriaceae* In Beef Products (Luncheon, Pasterma, Frankfurter and Minced meat) from Alexandria Retail Outlets. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*, 41(1), 80-86.
179. Emiroğlu, Z. K., Yemiş, G. P., Coşkun, B. K., Candogân, K. (2010). Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties. *Meat Science*, 86(2), 283-288.
180. Esmer, O. K., Irkin, R., Degirmencioglu, N., Degirmencioglu, A. (2011). The effects of modified atmosphere gas composition on microbiological criteria, color and oxidation values of minced beef meat. *Meat science*, 88(2), 221-226.
181. Espín, J.C., Soler-Rivas, C., Wichers, H.J. (2000). Characterization of the Total Free Radical Scavenger Capacity of Vegetable Oils and Oil Fractions Using 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Radical. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 48, 648–56

182. Esterbauer, H. (1993). Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *The American journal of clinical nutrition*, 57, 779S-785S.
183. Etcheverry, P., Hawthorne, K. M., Liang, L. K., Abrams, S. A., Griffin, I. J. (2006). Effect of beef and soy proteins on the absorption of non-heme iron and inorganic zinc in children. *Journal of the American College of Nutrition*, 25(1), 34-40.
184. European Food Safety Authority, (2006). The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2005. The EFSA Journal 94.
185. European Commission (2009). Commission Regulation (EC) No 450/2009 of 29 May 2009 on active and intelligent materials and articles intended to come into contact with food. Official Journal of the European Union, L 135, 1–11.
186. Euzéby, J. P. (1999). Revised *Salmonella* nomenclature: designation of *Salmonella enterica* (ex Kauffmann and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987 sp. nom., nom. rev. as the neotype species of the genus *Salmonella* Lignieres 1900 (approved lists 1980), rejection of the name *Salmonella choleraesuis* (Smith 1894) Weldin 1927 (approved lists 1980), and conservation of the name *Salmonella typhi* (Schroeter 1886) Warren and Scott 1930 (approved lists 1980). Request for an opinion. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49:927-930.
187. Euzéby, J. (2010). List of prokaryotic names with standing in nomenclature: genus *Salmonella*. 2010. <http://www.bacterio.cict.fr/s/salmonella.html>. Acesso em, 13, 12.
188. Evangelopoulou, G. D., Burriel, A., Spyrou, V., Ευαγγελοπούλου, Γ. Δ., & Σπύρου, B. (2010). A concise history of *Salmonella* spp.. nomenclature. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 61(4), 323-329.
189. Ewing WH. Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae*. 4th ed. New York: Elsevier Science Publishing Co. Inc., 1986.
190. Fachon, N. (2002). Modification de l'atmosphère de conservation (sous vide, gaz). Cours International de Microbiologie et Maitrise de la Securite des Aliments, Institute of Pasteur de Lille, Lille, France.
191. Falowo, A. B., Fayemi, P. O., Muchenje, V. (2014). Natural antioxidants against lipid-protein oxidative deterioration in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 64, 171-181.
192. FAO, F. (2013). Statistical Yearbook 2013: World Food and Agriculture. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), Rome, Italy.

193. FAO, F. (2014). Statistical Yearbook 2014: World Food and Agriculture. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, Regional Office for Europe and Central Asia), Budapest, Hungary.
194. Farmer, J. J., III, A. C. McWhorter, D. J. Brenner, G. K. Morris. (1984). The *Salmonella-Arizona* group of *Enterobacteriaceae*: nomenclature, classification, and reporting. *Clin. Microbiol. News*. 6:63-66.
195. Fasseas, M. K., Mountzouris, K. C., Tarantilis, P. A., Polissiou, M., Zervas, G. (2008). Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Food Chemistry*, 106(3), 1188-1194.
196. Fearon, W. R., Foster, D. L. (1922). The Autolysis of Beef and Mutton. *Biochemical Journal*, 16(5), 564.
197. Fearnley, E., Raupach, J., Lagala, F., Cameron, S. (2011). *Salmonella* in chicken meat, eggs and humans; Adelaide, South Australia, 2008. *International journal of food microbiology*, 146(3), 219-227.
198. Fedorka-Cray, P.J., Gray, J.T., Wray, C. (2000). *Salmonella* infections in pigs.In: Wray, C., Wray, A. (Eds.), *Salmonella* in Domestic Animals. CAB International, Wallingford, pp. 191–207.
199. Ferguson, L. R. (2010). Meat and cancer. *Meat science*, 84(2), 308-313.
200. Fernandes, R. P. P., M. A. Trindade, J. M. Lorenzo, P. E. S. Munekata, M. P. de Melo. (2016). "Effects of oregano extract on oxidative, microbiological and sensory stability of sheep burgers packed in modified atmosphere." *Food Control* 63, 65-75.
201. Fernández, J., Pérez-Álvarez, J. A., Fernández-López, J. A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, 59, 345-353.
202. Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., Scheffer, J. J. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23, 213-226.
203. Fisker, N., Vinding, K., Mölbak, K., Hornstrup, M. K. (2003). Clinical Review of Nontyphoid *Salmonella* Infections from 1991 to 1999 in a Danish Country. *Clinical Infectious Diseases*, 37(4), 47-52.
204. Foley, S. L., Lynne, A. M., Nayak, R. (2008). Salmonella challenges: prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates. *Journal of animal science*, 86(14 suppl), 149-162.
205. Forrest, J. C., Aberle, E. D., Hedrick, H. B., Judge, M. D., Merkel, R. A. (1975). *Principles of meat science*. WH Freeman and Co.

206. Food Standards Agency (2006). News. <http://www.food.gov.uk/news/newsarchive/2006/aug/cadbury> Accessed 06.09.2011'
207. Fosse, J., Seegers, H., Magras, C. (2009). Prevalence and Risk Factors for Bacterial Food-Borne Zoonotic Hazards in Slaughter Pigs: A Review. *Zoonoses and public health*, 56(8), 429-454.
208. Frangos, L., Pyrgotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A., Savvaidis, I. N. (2010). Combined effects of salting, oregano oil and vacuum-packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets. *Food microbiology*, 27(1), 115-121.
209. Fraqueza, M.J., Barreto, A.S., (2009). The effect on turkey meat shelf life of modified atmosphere packaging with an argon mixture. *Poult. Sci.* 88, 1991-1998.
210. Funk, J. (2007). News. [http://www.usatoday.com/news/health/2007-04-05-160772288\\_x.htm](http://www.usatoday.com/news/health/2007-04-05-160772288_x.htm)
211. Gallegos-Robles, M. A., Morales-Loredo, A., Ivarez-Ojeda, G. A., Osuna-García, J. A., Martínez, I. O., Morales-Ramos, L.H., et al. (2009). PCR detection and microbiological isolation of *Salmonella* spp. from fresh beef and cantaloupes. *Journal of Food Science*, 74, 37–40.
212. Gandemer, G. (2002). Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62, 309-321.
213. Garcia-Lopez, M. L., Prieto, M., Otero, A. (1998). The physiological attributes of Gram-negative bacteria associated with spoilage of meat and meat products. *The microbiology of meat and poultry*, 1-34.
214. Gast, R. K., Beard, C. W. (1992). Detection and enumeration of *Salmonella enteritidis* in fresh and stored eggs laid by experimentally infected hens. *Journal of Food Protection*, 55, 152–156.
215. Gast, R. K., Guraya, R., Guard, J., Holt, P. S. (2010). Multiplication of *Salmonella Enteritidis* in egg yolks after inoculation outside, on and inside vitelline membranes and storage at different temperatures. *Journal of Food Protection*, 73, 1902–1906.
216. Gautam, N., Mantha, A. K., Mittal, S. (2014). Essential oils and their constituents as anticancer agents: a mechanistic view. *BioMed research international*, 2014.
217. Gavarić, N., Kladar, N., Mišan, A., Nikolić, A., Samojlik, I., Mimica-Dukić, N., Božin, B. (2015). Postdistillation waste material of thyme (*Thymus vulgaris* L., *Lamiaceae*) as a potential source of biologically active compounds. *Industrial Crops and Products*, 74, 457-464.

218. Gebreyes, W. A., Thakur, S., Davies, P. R., Funk, J. A., Altier, C. (2004). Trends in antimicrobial resistance, phage types and integrons among *Salmonella* serotypes from pigs, 1997–2000. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53, 997–1003.
219. Gebreyes, W. A., Thakur, S. (2005). Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Muenchen from pigs and humans and potential interserovar transfer of antimicrobial resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49, 503–511.
220. Gebreyes, W. A., Thakur, S., Morrow, W. E. (2006). Comparison of prevalence, antimicrobial resistance, and occurrence of multidrug-resistant *Salmonella* in antimicrobial-free and conventional pig production. *Journal of Food Protection*, 69(4), 743-748.
221. Ghaly, A. E., Dave, D., Brooks, M. S., Budge, S. (2010). Production of biodiesel by enzymatic transesterification: review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 6(2), 54-76.
222. Gheisari, H. R. (2011). Correlation between acid, TBA, peroxide and iodine values, catalase and glutathione peroxidase activities of chicken, cattle and camel meat during refrigerated storage. *World*, 4, 153-157.
223. Gill, A. O., Delaquis, P., Russo, P., Holley, R. A. (2002). Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *International journal of food microbiology*, 73(1), 83-92.
224. Gill, C.O. (1991). Extending the storage life of raw meat. I. Preservative atmospheres. Western Canada Research Group on Extended Storage of Meat and Meat Products. Technical Bulletin Number 1, Department of Applied Microbiology and Food Science, University of Saskatchewan, Saskatoon, SK
225. Gill, C. O. (1996). Extending the storage life of raw chilled meats. *Meat science*, 43, 99-109.
226. Gill, C. O., Molin, G. (1991). Modified atmosphere and vacuum packaging. In N. J. Russell, & G. W. Gould (Eds.), *Food preservation* (pp. 172–199). Glasgow, Scotland and New York: Blackie and AVI.
227. Gill, A. O., C. O. Gill . (2005). CH13. Preservative packaging for fresh meats, poultry and fi n fi sh . In *Innovations in Food Packaging* , edited by J. H. Han. London: Elsevier Academic Press.
228. Gök, V., Obuz, E., Akkaya, L. (2008). Effects of packaging method and storage time on the chemical, microbiological, and sensory properties of Turkish pastirma—A dry cured beef product. *Meat science*, 80(2), 335-344.

229. Gomes-Carneiro, M. R., Viana, M. E., Felzenszwalb, I., & Paumgartten, F. J. (2005). Evaluation of  $\beta$ -myrcene,  $\alpha$ -terpinene and (+)-and (-)- $\alpha$ -pinene in the *Salmonella*/microsome assay. *Food and chemical toxicology*, 43(2), 247-252.
230. Gómez-Estaca, J., de Lacey, A. L., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., Montero, P. (2010). Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27, 889-896.
231. Gomes-Neves, E., Antunes, P., Tavares, A., Themudo, P., Cardoso, M. F., Gärtner, F., ... & Peixe, L. (2012). *Salmonella* cross-contamination in swine abattoirs in Portugal: Carcasses, meat and meat handlers. *International journal of food microbiology*, 157(1), 82-87.
232. Gonzales-Barron, U. A., Redmond, G., Butler, F. (2012). A risk characterization model of *Salmonella* Typhimurium in Irish fresh pork sausages. *Food Research International*, 45(2), 1184-1193.
233. Gordon, M. A. (2008). *Salmonella* infections in immunocompromised adults. *Journal of Infection*, 56(6), 413-422.
234. Govaris, A., Solomakos, N., Pexara, A., Chatzopoulou, P. S. (2010). The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Salmonella Enteritidis* in minced sheep meat during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology*, 137, 175-180.
235. Graham BR. (2001). Meat packaging. In: Young OA, Rogers RW, Hui YH, Nip WK, editors. *Meat science and applications*. Boca Raton, FL: CRC Press.
236. Graham S.M. (2002) Salmonellosis in children in developing and developed countries and populations. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 15, 507–512.
237. Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B., & Givskov, M. (2002). Food spoilage—Interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 78(1–2), 79–97.
238. Grasso, M. E., Grove F. S., Halik A. L., Arritt F., Keller E. S. (2015). Cleaning and Sanitation of *Salmonella* contaminated Peanut Butter Processing Equipment. *Food Microbiology*, 46, 100-106.
239. Gray, J. I., Pearson, A. M. (1994). Lipid-derived off-flavours in meat—formation and inhibition. In *Flavor of meat and meat products* (pp. 116-143). Springer US.
240. Gray, J. T. and Fedorka-Cray, P. J. (2002). *Salmonella*. In Cliver, D. O. and Riemann, H. P. (Eds.). *Foodborne diseases*, p. 55-68. San Diego: Academic Press.

241. Green, L.C., Wagner, D. A, Glogowski, J., Skipper, P.L., Wishnok, J.S., Tannenbaum, S.R. (1982). Analysis of Nitrate, Nitrite, and [15N] Nitrate in Biological Fluids. *Analytical biochemistry*, 126, 131–38.
242. Gross S., Johne A., Adolphs J., Schlichting D., Stingl K., Müller-Graf C., Braunig J., Greiner M., Appel B., Kasbohrer A., (2015). *Salmonella* in table eggs from farm to retail e When is cooling required? *Food Control* 47, 254-263.
243. Guba R. (2001): Toxicity myths – essential oils and their carcinogenic potential. *Int. J. Aromather.*, vol. 11, 76–83.
244. Guenther, E. (1948). The essential oils, volume I.
245. Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., Bourke, P. (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International journal of food microbiology*, 124(1), 91-97.
246. Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., Bourke, P. (2009). Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: efficacy, synergistic potential and interactions with food components. *Food microbiology*, 26(2), 142-150.
247. Haak, L., Raes, K., Smet, K., Claeys, E., Paelinck, H., De Smet, S. (2006). Effect of dietary antioxidant and fatty acid supply on the oxidative stability of fresh and cooked pork. *Meat science*, 74, 476-486.
248. Häggblom, P., 2009. The Feed Borne Outbreak of *Salmonella Tennessee* in Finland in the Spring of 2009. National Veterinary Institute (SVA), p. 20. [www.mmm.fi/attachments/mmm/tiedotteet/5mlkunEwY](http://www.mmm.fi/attachments/mmm/tiedotteet/5mlkunEwY) (accessed 13 April 2012).
249. Hald, T. (2010). *EFSA Panel on Biological Hazards; Scientific Opinion on a Quantitative Microbiological Risk Assessment of Salmonella in slaughter and breeder pigs*. European Food Safety Authority.
250. Hald T. (2013), Pathogen Updates: *Salmonella*, In Morris Jr, J. G., & Potter, M.. *Foodborne infections and intoxications*. Academic Press.
251. Hald, T., Wingstrand, A., Swanenburg, M., von Altrock, A., Thorberg, B.-M., (2003). The occurrence and epidemiology of *Salmonella* in European pig slaughterhouses. *Epidemiology and Infection* 131, 1187–1203.
252. Hall, G., Kirk, M., Becker, N., Gregory, J., Unicomb, L., Millard, G., Stafford, R.J., Lalor, K., OzFoodNet Working Group, (2005). Estimating foodborne gastroenteritis, Australia. *Emerging Infectious Diseases* 11, 1257–1264.
253. Halliwell, B., Gutteridge, J.M. (1990). Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol*, 186, 1-85.

254. Hamilton, D., Holds, G., Smith, G., Flint, R., Lorimer, M., Davos, D., ... Pointon, A. (2011). National baseline surveys to characterise processing hygiene and microbial hazards of Australian culled sow meat, retail pork sausages and retail pork mince.
255. Han, J., Rhee, K. S. (2005). Antioxidant properties of selected Oriental non-culinary/nutraceutical herb extracts as evaluated in raw and cooked meat. *Meat science*, 70(1), 25-33
256. Hanes, D. 2003. Nontyphoid *Salmonella*. In Henegariu, O., Heerema, N. A., Dloughy, S. R., Vance, G. H and Vogt, P. H. (Eds.). International handbook of foodborne pathogens, p. 137-149. New York: Marcel Dekker, Inc.
257. Hartman, P. E., & Shankel, D. M. (1990). Antimutagens and anticarcinogens: a survey of putative interceptor molecules. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 15(3), 145-182.
258. Hau, N. V. (2008). On farm performance of Vietnamese pig breeds and its relation to candidate genes. *Doctorial Thesis*.
259. Hayes, J. R., English, L. L., Carter, P. J., Proescholdt, T., Lee, K. Y., Wagner, D. D., White, D. G. (2003). Prevalence and antimicrobial resistance of Enterococcus species isolated from retail meats. *Applied and environmental microbiology*, 69(12), 7153-7160.
260. Hayouni, E. A., Chraief, I., Abedrabba, M., Bouix, M., Leveau, J. Y., Mohammed, H., Hamdi, M. (2008). Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology*, 125(3), 242-251.
261. Higgs, J. D. (2000). The changing nature of red meat: 20 years of improving nutritional quality. *Trends in Food Science & Technology*, 11(3), 85-95.
262. Hendriksen, R. S., Larsen, J. N. (2003). Global Salm-Surv: A global *Salmonella* surveillance and laboratory support project of the World Health Organization. *Laboratory Protocols*.
263. Herbert, U., Rossaint, S., Khanna, M.-A., Kreyenschmidt, J. (2013). Comparison of argonbased and nitrogen-based modified atmosphere packaging on bacterial growth and product quality of chicken breast fillets. *Poult. Sci.* 92, 1348-1356.
264. Heymann, D.L. (Ed.), (2004). Control of Communicable Diseases Manual. American Public Health Association, Washington.

265. Heyndrickx, M., Pasmans, F., Ducatelle, R., Decostere, A., Haesebrouck, F. (2005). Recent changes in *i Salmonella i* nomenclature: The need for clarification. *The Veterinary Journal*, 170 (3), 275-277.
266. Holley, R. A., McKellar, R. C. (1996). Influence of unsliced delicatessen meat freshness upon bacterial growth in subsequently prepared vacuum packed slices. *International journal of food microbiology*, 29(2), 297-309.
267. Hsouna, A. B., Trigui, M., Mansour, R. B., Jarraya, R. M., Damak, M., Jaoua, S. (2011). Chemical composition, cytotoxicity effect and antimicrobial activity of Ceratonia siliqua essential oil with preservative effects against *Listeria* inoculated in minced beef meat. *International journal of food microbiology*, 148(1), 66-72.
268. Hu, L. Kopecko, D. J. (2003). Typhoid *Salmonella*. In Millotis, M. D. and Bier, J. W. (Eds.). *International handbook of foodborne pathogens*, p. 151-165. New York: Marcel Dekker, Inc.
269. Huang, L., Zhao, J., Chen, Q., Zhang, Y. (2014). Nondestructive measurement of total volatile basic nitrogen (TVB-N) in pork meat by integrating near infrared spectroscopy, computer vision and electronic nose techniques. *Food chemistry*, 145, 228-236.
270. Huang, Q., Chen, Q., Li, H., Huang, G., Ouyang, Q., Zhao, J. (2015). Non-destructively sensing pork's freshness indicator using near infrared multispectral imaging technique. *Journal of Food Engineering*.
271. Hui, Y. H. (Ed.). (2006). *Handbook of food science, technology, and engineering* (Vol. 149). CRC press.
272. Hulánková, R., Bořilová, G., Steinhauserová, I. (2010). Influence of modified atmosphere packaging on the survival of *Salmonella enteritidis* pt 8 on the surface of chilled chicken legs. *Acta Veterinaria Brno*, 79(9), 127-132.
273. Hur, J., Jawale, C., Lee, J. H. (2012). Antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from food animals: A review. *Food Research International*, 45(2), 819-830.
274. Hurd, H.S., McKean, J.D., Wesley, I.V., Karriker, L.A., (2001). The effect of lairage on *Salmonella* isolation from market swine. *Journal of Food Protection* 64, 939–944.
275. Huss, H.H. (1995). Quality and Quality Changes in Fresh Fish. Fisheries Technical Paper no. 348. Rome, Italy: FAO
276. Hutton, T. (2003). Food packaging: An introduction. Key topics in food science and technology – Number 7. Chipping Campden, Gloucestershire, UK: Campden and Chorleywood Food Research Association Group (p. 108).

277. Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3.
278. IFT (Institute of Food Technologists). (2006). Antimicrobial Resistance – Implications for the Food System. Chicago, IL. 137 p.
279. Imhoff J. F. “Enterobacteriales” in : Rainey, F. A. (2005). Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology, pp 587-850
280. Insausti, K., Beriaín, M. J., Purroy, A., Alberti, P., Gorraiz, C., Alzueta, M. J. (2001). Shelf life of beef from local Spanish cattle breeds stored under modified atmosphere. *Meat Science*, 57, 273-281.
281. Ipek, E., Zeytinoglu, H., Okay, S., Tuylu, B. A., Kurkcuoglu, M., Baser, K. H. C. (2005). Genotoxicity and antigenotoxicity of Origanum oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test. *Food Chemistry*, 93(3), 551-556.
282. Ivanović S., Teodorović V., Baltić Ž. M. (2012). Kvalitet mesa biološke i hemijske opasnosti., Naučni institut za veterinarstvo Srbije, Naučna KMD.
283. Ivanović Jelena (2014). Ispitivanje uticaja različitih načina pakovanja na rast *Yersinia enterocolitica* u mesu svinja, Doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, 1-143.
284. Jakobsen, M., Bertelsen, G. (2002). The use of CO<sub>2</sub> in packaging of fresh red meats and its effect on chemical quality changes in the meat: A review. *Journal of Muscle Foods*, 13(2), 143-168.
285. Jacxsens, L., Devlieghere, F., Ragaert, P., Vanneste, E., Debevere, J. (2003). Relation between microbiological quality, metabolite production and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh-cut produce. *International Journal of Food Microbiology*, 83(3), 263-280.
286. Jay, J. M. (2012). *Modern food microbiology*. Springer Science & Business Media.
287. Jay, J.M., M.J. Loessner and D.A. Golden, (2005). Modern Food Microbiology, 7th Edn., Springer Science and Business Media. NY, pp: 63-101. ISBN: 0387231803.
288. Jayasingh, P., Cornforth, D. P., Brennand, C. P., Carpenter, C. E., & Whittier, D. R. (2002). Sensory Evaluation of Ground Beef Stored in High-oxygen Modified Atmosphere Packaging. *Journal of Food Science*, 67(9), 3493-3496
289. Jay, J.M., M.J. Loessner and D.A. Golden, (2005). Modern Food Microbiology, 7th Edn., Springer Science and Business Media. NY, pp: 63-101. ISBN: 0387231803.

290. Jeremiah, L. E. (2001). Packaging alternatives to deliver fresh meats using short-or long-term distribution. *Food Research International*, 34(9), 749-772.
291. Jia, H. L., Ji, Q. L., Xing, S. L., Zhang, P. H., Zhu, G. L., Wang, X. H. (2010). Chemical composition and antioxidant, antimicrobial activities of the essential oils of *Thymus morschallianus* Will. and *Thymus proximus* Serg. *Journal of food science*, 75, 59-65.
292. Jouki, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Koocheki, A., Khazaei, N. (2014). Effect of quince seed mucilage edible films incorporated with oregano or thyme essential oil on shelf life extension of refrigerated rainbow trout fillets. *International journal of food microbiology*, 174, 88-97.
293. Juergens, U. R., Stöber, M., Schmidt-Schilling, L., Kleuver, T., Vetter, H. (1998). Antiinflammatory effects of euclyptol (1.8-cineole) in bronchial asthma: inhibition of arachidonic acid metabolism in human blood monocytes ex vivo. *European journal of medical research*, 3(9), 407-412.
294. Jukić, M., Miloš, M. (2005). Catalytic oxidation and antioxidant properties of thyme essential oils (*Thymus vulgarae* L.). *Croatica chemica acta*, 78, 105-110.
295. Juliano, C., Mattana, A., Usai, M. (2000). Composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus herba-barona* Loisel growing wild in Sardinia. *Journal of Essential Oil Research*, 12(4), 516-522.
296. Juneja VK. (2003). Intervention strategies for control of foodborne pathogens. In: Bennedsen BS, Chen YR, Meyer GE, Senecal AG, Tu SI, editors. Monitoring food safety, agriculture, and plant health, vol. 5271. Proceedings of SPIE—the International Society for Optical Engineering, 2003 October 29-30; Providence, RI. p 147–60.
297. Juven, B. J., Kanner, J., Schved, F., Weisslowicz, H. (1994). Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of applied bacteriology*, 76(6), 626-631.
298. Kada, T., Shimoi, K. (1987). Desmutagens and bio-antimutagens—their modes of action. *Bioessays*, 7(3), 113-116.
299. Kanner, J. (1994). Oxidative processes in meat and meat products: quality implications. *Meat Science*, 36(1), 169-189.
300. Karabagias, I., Badeka, A., Kontominas, M. G. (2011). Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Meat science*, 88, 109-116.

301. Karre, L., Lopez, K., Getty, K. J. (2013). Natural antioxidants in meat and poultry products. *Meat science*, 94, 220-227.
302. Kauffmann, F., and P. R. Edwards. (1952). Classification and nomenclature of *Enterobacteriaceae*. Int. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon. 2:2-8.
303. Kauffmann, F. (1966). The bacteriology of *Enterobacteriaceae*. Munksgaard, Copenhagen, Denmark.
304. Kerry, J. P., Buckley, D. J., Morrissey, P. A. (2000). Improvement of oxidative stability of beef and lamb with vitamin E. *Antioxidants in Muscle Foods. EA Decker, C. Faustman, and C. Lopez-Bote, ed. Wiley-Interscience, New York, NY*, 229-262.
305. Kerry, J. P., Kerry, J. F., Ledward, D. (Eds.). (2002). Meat processing: improving quality. Elsevier.
306. Kerry, J. P., O'grady, M. N., Hogan, S. A. (2006). Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat science*, 74(1), 113-130.
307. Khaksar, R., Moslemy, M., Hosseini, H. E. D. A. Y. A. T., Taslimi, A., Ramezani, A. T. E. N. A., Amiri, Z. O. H. R. E. H., Sabzevari, A. (2010). Comparison of lipid changes in chicken frankfurters made by soybean and canola oils during storage. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 11(2), 154-163
308. Khanjari, A., Karabagias, I. K., Kontominas, M. G. (2013). Combined effect of N, O-carboxymethyl chitosan and oregano essential oil to extend shelf life and control *Listeria monocytogenes* in raw chicken meat fillets. *LWT-Food Science and Technology*, 53(1), 94-99.
309. Khayat, A., Schwall, D. (1983). Lipid oxidation in seafood. *Food Technology (USA)*.
310. Kilara, A. (1985). Enzyme-modified lipid food ingredients. *Process Biochemistry*, 20, 35-40.
311. Kong, B. H., Ma, L. Z. (2003). Meat science and technology. *Chinese Light Industry Press, Beijing, China*, 97-99.
312. Kostaki, M., Gitrakou, V., Savvaidis, I. N., Kontominas, M. G. (2009). Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food Microbiology*, 26(5), 475-482.
313. Kousta, M., Mataragas, M., Skandamis, P., Drosinos, E. H. (2010). Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control*, 21, 805-815.

314. Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food chemistry*, 85(4), 633-640.
315. Kuo, J., and H. Kirkman. "Fruits, seeds and germination in the seagrass *Halophila ovalis* (Hydrocharitaceae)." *Botanica marina* 35, no. 3 (1992): 197-204.
316. Kuroda, Y., Inoue, T. (1988). Antimutagenesis by factors affecting DNA repair in bacteria. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 202(2), 387-391.
317. Kuvandik, C., Karaoglan, I., Namiduru, M., & Baydar, I. (2009). Predictive value of clinical and laboratory findings in the diagnosis of enteric fever. *The new microbiologica*, 32(1), 25.
318. Kykkidou, S., Giatrakou, V., Papavergou, A., Kontominas, M. G., Savvaidis, I. N. (2009). Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4 C. *Food Chemistry*, 115(1), 169-175.
319. Labadie, J. (1999). Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. *Meat Science*, 52(3), 299-305.
320. Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., Nychas, G. J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of applied microbiology*, 91(3), 453-462.
321. Larsen, S. T., McKean, J. D., Hurd, H. S., Rostagno, M. H., Griffith, R. W., Wesley, I. V. (2003). Impact of commercial preharvest transportation and holding on the prevalence of *Salmonella enterica* in cull sows. *Journal of Food Protection*, 66, 1134–1138.
322. Larsen, S. T., Hurd, H. S., McKean, J. D., Griffith, R. W., Wesley, I. V. (2004). Effect of short-term lairage on the prevalence of *Salmonella enterica* in cull sows. *Journal of Food Protection*, 67, 1489–1493.
323. Larsson, S. C., Wolk, A. (2006). Meat consumption and risk of colorectal cancer: a meta-analysis of prospective studies. *International journal of cancer*, 119(11), 2657-2664.
324. Lahiri, A., Lahiri, A., Iyer, N., Das, P., & Chakravortty, D. (2010). Visiting the cell biology of *Salmonella* infection. *Microbes and infection*, 12(11), 809-818.
325. Lavieri, N., Williams, S. K. (2014). Effects of packaging systems and fat concentrations on microbiology, sensory and physical properties of ground beef stored at 4±1° C for 25days. *Meat science*, 97(4), 534-541.

326. Le Minor L, Veron M, Popoff M. A proposal for *Salmonella* nomenclature. Ann Microbiol (Paris) 1982;133:245-54.
327. Le Minor L, Popoff MY. Request for an opinion. Designation of *Salmonella enterica* sp. nov., nom. rev., as the type and only species of the genus *Salmonella*. Int J Syst Bacteriol 1987;37:465-8.
328. Lee, S. J., Umano, K., Shibamoto, T., Lee, K. G. (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91, 131-137.
329. Lee J. S., Mijanur Rahman A.T.M, (2014). Intelligent Packaging for Food Products In: Innovations in Food Packaging (Second Edition), Edit by edited by Jung H. Han 171-209.
330. LeJeune, J. T., Rajala-Schultz, P. J. (2009). Unpasteurized milk: A continued public health threat. Clinical Infectious Diseases, 48,93–100.
331. Leyman, B., (2012). Optimizing vaccination of pigs against *Salmonella* Typhimurium. PhD Thesis, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ghent, Belgium.
332. Li, M., Malladi, S., Hurd, H. S., Goldsmith, T. J., Brichta-Harhay, D. M., Loneragan, G. H. (2015). *Salmonella* spp. in lymph nodes of fed and cull cattle: Relative assessment of risk to ground beef. *Food Control*, 50, 423-434.
333. Libby, S.J., Halsey, T.A., Altier, C., Potter, J., Gyles, C.L. (2004). *Salmonella*. In: Gyles, C.L., Prescott, J.F., Songer, J.G, Thoen, C.O. (Eds.), Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Blackwell Publishing Professional, Ames, Iowa, USA.
334. Lin, M., Al-Holy, M., Mousavi-Hesary, M., Al-Qadiri, H., Cavinato, A. G., Rasco, B. A. (2004). Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage in chicken meat by diffuse reflectance spectroscopy (600–1100 nm). *Letters in Applied Microbiology*, 39(2), 148-155.
335. Linares, M. B., Berruga, M. I., Bórnez, R., Vergara, H. (2007). Lipid oxidation in lamb meat: Effect of the weight, handling previous slaughter and modified atmospheres. *Meat science*, 76(4), 715-720.
336. Lindner, T., Springer, S. Selbitz, H.J. (2007). The use of a *Salmonella* Typhimurium live vaccine to control *Salmonella* Typhimurium in fattening pigs in field and effects on serological surveillance. In: Proceedings of the 7th International Symposium on the Epidemiology and Control of Foodborne Pathogens in Pork, Safepork, Verona, Italy, pp. 237–239.

337. Linscott A. J. (2011). Food-Borne Illnesses. Clinical Microbiology Newsletter, 33, 41–45.
338. Little, C. L., Richardson, J. F., Owen, R. J., De Pinna, E., Threlfall, E. J. (2008b). *Campylobacter* and *Salmonella* in raw red meats in the United Kingdom: Prevalence, characterization and antimicrobial resistance pattern, 2003–2005. Food Microbiology, 25, 538–543.
339. Liu , Q. , M. C. Lanari , and D. M. Schaefer (1995). A review of dietary vitamin E supplementation for improvement of beef quality . *Journal of Animal Science* 73 : 3131-3140.
340. Lo Fo Wong, D.M.A., Dahl, J., Stege, H., Van Der Wolf, P.J., Leontides, L., Von Altrock, A., Thorberg, B.M. (2004). Herd-level risk factors for subclinical *Salmonella* infection in European finishing pig herds. Preventive Veterinary Medicine 62, 253–266.
341. Lončina, J. P. (2014). Ispitivanje uticaja različitih načina pakovanja na rast *Salmonella* spp.. u mlevenom mesu.
342. López-Díez, E. C., Winder, C. L., Ashton, L., Currie, F., Goodacre, R. (2005). Monitoring the Mode of Action of Antibiotics Using Raman Spectroscopy: Investigating Subinhibitory Effects of Amikacin on *Pseudomonas aeruginosa*. *Analytical chemistry*, 77(9), 2901-2906.
343. Love, J. D., Pearson, A. M. (1971). Lipid oxidation in meat and meat products—A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 48(10), 547-549.
344. Lu, Y., Wu, C. (2010). Reduction of *Salmonella enterica* contamination on grape tomatoes by washing with thyme oil, thymol, and carvacrol as compared with chlorine treatment. *Journal of Food Protection*, 73(12), 2270-2275.
345. Lukić, Mirjana, Danijela Vranić, Lazar Turubatović, Zoran Petrović, Dragan Milićević, Dragica Karan, Milan Milijašević. (2013). Comparison of results of sensory and chemical and physico-chemical investigations of fresh chilled beef packaged in vacuum during storage in retail conditions. *Tehnologija mesa* 54, 1, 21-32.
346. Lunestad, B. T., Borlaug, K. (2009). Persistence of *Salmonella enterica* serovar Agona in oil for fish feed production. *Journal of Aquaculture Feed Science and Nutrition*, 1,73–77.

347. Lund, M. N., Lametsch, R., Hviid, M. S., Jensen, O. N., Skibsted, L. H. (2007). High-oxygen packaging atmosphere influences protein oxidation and tenderness of porcine longissimus dorsi during chill storage. *Meat Science*, 77(3), 295-303.
348. Lv, F., Liang, H., Yuan, Q., Li, C. (2011). In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Research International*, 44 (9), 3057-3064.
349. Majowicz, S., Musto, J., Scallan, E., Angulo, F.J., Kirk, M., O'Brien, S.J., Jones, T.F., Fazil, A., Hoekstra, R.M., International Collaboration on Enteric Disease 'Burden of Illness' Studies, (2010). The global burden of nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. *Clin. Infect. Dis.* 50, 882–889.
350. Majowicz, S. E., Edge, V. L., Fazil, A., McNab, W. B., Doré, K. A., Sockett, P. N., ... & Wilson, J. B. (2005). Estimating the under-reporting rate for infectious gastrointestinal illness in Ontario. *Canadian Journal of Public Health/Revue Canadienne de Santé Publique*, 178-181.
351. Manafi, M. (2000). New developments in chromogenic and fluorogenic culture media. *International Journal of Food Microbiology*, 60 (2), 205-218.
352. Mancini, R. A., Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71, 100–121.
353. Mani-López, E., García, H. S., López-Malo, A. (2012). Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Food Research International*, 45(2), 713-721.
354. Manso, S., Pezo, D., Gómez-Lus, R., Nerin, C. (2014). Diminution of aflatoxin B1 production caused by an active packaging containing cinnamon essential oil. *Food Control*, 45, 101-108.
355. Mansuwan, P., Taylor, D. N. (1987). Typhoid and paratyphoid fever in 192 hospitalized children in Thailand. *American Journal of Diseases of Children*, 141(8), 862-865.
356. Mapiye, C., Aldai, N., Turner, T. D., Aalhus, J. L., Rolland, D. C., Kramer, J. K. G., Dugan, M. E. R. (2012). The labile lipid fraction of meat: From perceived disease and waste to health and opportunity. *Meat science*, 92(3), 210-220.
357. Maqsood, S., Abushelaibi, A., Manheem, K., Al Rashedi, A., Kadim, I. T. (2015). Lipid oxidation, protein degradation, microbial and sensorial quality of camel meat as influenced by phenolic compounds. *LWT-Food Science and Technology*.

358. Mataragas, M., Drosinos, E. H., Vaidanis, A., Metaxopoulos, I. (2006). Development of a predictive model for spoilage of cooked cured meat products and its validation under constant and dynamic temperature storage conditions. *Journal of food science*, 71(6), 157-167.
359. Martín-Peláez, S., Peralta, B., Creus, E., Dalmau, A., Velarde, A., Pérez, J.F., Mateu, E., Martín-Orué, S.M. (2009). Different feed withdrawal times before slaughter influence caecal fermentation and faecal *Salmonella* shedding in pigs. *The Veterinary Journal*, 182, 469–473.
360. Martín-Sánchez, A. M., Chaves-López, C., Sendra, E., Sayas, E., Fenández-López, J., Pérez-Álvarez, J. Á. (2011). Lipolysis, proteolysis and sensory characteristics of a Spanish fermented dry-cured meat product (salchichón) with oregano essential oil used as surface mold inhibitor. *Meat science*, 89, 35-44.
361. Martínez, L., Djenane, D., Cilla, I., Beltrán, J. A., Roncalés, P. (2006). Effect of varying oxygen concentrations on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Food Chemistry*, 94, 219-225.
362. Martucci, J. F., Gende, L. B., Neira, L. M., Ruseckaite, R. A. (2015). Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. *Industrial Crops and Products*, 71, 205-213.
363. Masango, P. (2005). Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*, 13(8), 833-839.
364. Masniyom, P. (2011). Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. *Sonklanakarin Journal of Science and Technology*, 33(2), 181.
365. Mataragas, M., Skandamis, P. N., Drosinos, E. H. (2008). Risk profiles of pork and poultry meat and risk ratings of various pathogen/product combinations. *International Journal of Food Microbiology*, 126(1), 1-12.
366. Mazzarino, S., Corsi, A. (2015). I flussi dell'uva verso la vinificazione: un'analisi comparata per regioni e macroaree. *Economia agro-alimentare*.
367. McAfee, A. J., McSorley, E. M., Cuskelly, G. J., Moss, B. W., Wallace, J. M., Bonham, M. P., Fearon, A. M. (2010). Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat science*, 84(1), 1-13.
368. McCann, M. S., Sheridan, J. J., McDowell, D. A., Blair, I. S. (2006). Effects of steam pasteurisation on *Salmonella* Typhimurium DT104 and *Escherichia coli* O157: H7

- surface inoculated onto beef, pork and chicken. *Journal of Food Engineering*, 76(1), 32-40.
369. McGinley, C. M., McGinley, M. A., McGinley, D. L. (2000, June). Odor Basics, understanding and using odor testing. In *The 22nd Annual Hawaii Water Environment Association Conference* (pp. 6-7).
370. McMillin, K. W. (2008). Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. *Meat science*, 80(1), 43-65.
371. McNeill, S., Van Elswyk, M. E. (2012). Red meat in global nutrition. *Meat science*, 92(3), 166-173.
372. Mead, P. S., L. Slutsker, V. Dietz, L. F. McCaig, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin, and R. V. Tauxe. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerg. Infect. Dis.* 5:607–625.
373. Michaelsen, A. R., Sebranek, J. G., Dickson, J. S. (2006). Effects of microbial inhibitors and modified atmosphere packaging on growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica Typhimurium* and on quality attributes of injected pork chops and sliced cured ham. *Journal of Food Protection*, 69(11), 2671-2680.
374. Michalczyk, M., Macura, R., Tesarowicz, I., Banaś, J. (2012). Effect of adding essential oils of coriander (*Coriandrum sativum* L.) and hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) on the shelf life of ground beef. *Meat science*, 90(3), 842-850.
375. Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules*, 15, 9252-9287.
376. Miller, D. L., Goepfert, J. M., Amundson, C. H. (1972). Survival of *Salmonellae* and *Escherichia coli* during the spray drying of various food products. *Journal of Food Science*, 37, 828–831.
377. Miller, D.M., Aust, S.D. (1989). Studies of Ascorbate-Dependent, Iron-Catalyzed Lipid Peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 271, 113–19.
378. Min, B. (2006). Mechanisms of lipid peroxidation in meats from different animal species. ProQuest.
379. Min, B., Ahn, D. U. (2005). Mechanism of lipid peroxidation in meat and meat products-A review. *Food Science and Biotechnology*, 14, 152-163.
380. Min, B. R., Nam, K. C., Cordray, J. C., Ahn, D. U. (2008). Factors affecting oxidative stability of pork, beef, and chicken meat. *Animal Industry Report*, 654(1), 6.
381. Moller, K., Jensen, T. K., Jorsal, S. E., Leser, T. D., Carstensen, B. (1998). Detection of *Lawsonia intracellularis*, *Serpulina hyodysenteriae*, weakly beta-haemolytic

- intestinal spirochaetes, *Salmonella* enterica, and haemolytic *Escherichia coli* from swine herds with and without diarrhea among growing pigs. *Veterinary Microbiology*, 62, 59–72.
382. Moreira, P. L., Lourencao, T. B., Pinto, J. P., Rall, V. L. (2009). Microbiological quality of spices marketed in the city of Botucatu, Sao Paulo, Brazil. *Journal of Food Protection*, 72, 421–424.
383. Morgan, N. (2007). Argon—the noble protector.
384. Motarjemi, Y. (2013). *Encyclopedia of food safety*. Academic Press.
385. Mughini-Gras, L., van Pelt, W. (2014). Salmonella source attribution based on microbial subtyping: Does including data on food consumption matter?. *International journal of food microbiology*, 191, 109-115.
386. Mukhopadhyay, S., Ramaswamy, R. (2012). Application of emerging technologies to control *Salmonella* in foods: A review. *Food Research International*, 45(2), 666-677.
387. Mullan, W.M.A. (2002). Science and technology of modified atmosphere packaging. [On-line]. Available from:<http://www.dairyscience.info/index.php/packaging-117-modifiedatmosphere-packaging.html>.
388. Mullan M., McDowell D. (2003). In *Food Packaging Technology* (Vol. 5) Edited by Richard Coles, Derek McDowell, Mark J. Kirwan. CRC Press.
389. Mürmann, L., dos Santos, M. C., Cardoso, M. (2009). Prevalence, genetic characterization and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from fresh pork sausages in Porto Alegre, Brazil. *Food Control*, 20(3), 191-195.
390. Nabavi, S. M., Marchese, A., Izadi, M., Curti, V., Daghia, M., Nabavi, S. F. (2015). Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agents: From farm to pharmacy. *Food Chemistry*, 173, 339-347.
391. Nakatsu, T., Lupo, A. T., Chinn, J. W., Kang, R. K. (2000). Biological activity of essential oils and their constituents. *Studies in natural products chemistry*, 21, 571-631.
392. Narasimha R. D., Sachindra, N. M., (2002). Modified atmosphere and vacuum packaging of meat and poultry products. *Food Reviews International* 18, 4, 263-293.
393. Naz, S., Siddiqi, R., Sheikh, H., Sayeed, S. A. (2005). Deterioration of olive, corn and soybean oils due to air, light, heat and deep-frying. *Food Research International*, 38(2), 127-134.
394. Newell D. G., Koopmans M., Verhoef L., Duizer E., Aidara-Kane A., Sprong H., Opsteegh M., Langelaar M., Threfall J., Scheutz F., van der Giessen J., Kruse, H.,

2010. Food-borne diseases, The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge, *International Journal of Food Microbiology*, 139, 3–15.
395. Nierhaus, K. H., Wilson, D. (2004). *Protein synthesis and ribosome structure*. John Wiley & Sons.
396. Nieto, G., Bañón, S., Garrido, M. D. (2011). Effect of supplementing ewes' diet with thyme (*Thymus zygis* ssp. *gracilis*) leaves on the lipid oxidation of cooked lamb meat. *Food Chemistry*, 125, 1147-1152.
397. Nikolić, M., Glamočlija, J., Ferreira, I. C., Calhelha, R. C., Fernandes, Â., Marković, T., ... Soković, M. (2014). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 52, 183-190.
398. Nissen, H., Alvseike, O., Bredholt, S., Holck, A., Nesbakken, T. (2000). Comparison between the growth of *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella* spp.. in ground beef packed by three commercially used packaging techniques. *International journal of food microbiology*, 59(3), 211-220.
399. Nowak, A., Kalemba, D., Krala, L., Piotrowska, M., Czyzowska, A. (2012). The effects of thyme (*Thymus vulgaris*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils on *Brochothrix thermosphacta* and on the shelf life of beef packaged in high-oxygen modified atmosphere. *Food Microbiology*, 32, 212-216.
400. Nychas, G. J., Tassou, C. C. (1996). Growth/survival of *Salmonella* enteritidis on fresh poultry and fish stored under vacuum or modified atmosphere. *Letters in applied microbiology*, 23(2), 115-119.
401. Nychas, G. J. E., Skandamis, P. N., Tassou, C. C., Koutsoumanis, K. P. (2008). Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, 78(1), 77-89.
402. O'Grady, M. N., Monahan, F. J., Burke, R. M., Allen, P. (2000). The effect of oxygen level and exogenous  $\alpha$ -tocopherol on the oxidative stability of minced beef in modified atmosphere packs. *Meat Science*, 55, 39-45.
403. O'Halloran, G. R., Troy, D. J., Buckley, D. J. (1997). The relationship between early post-mortem pH and the tenderisation of beef muscles. *Meat Science*, 45(2), 239-251.
404. O' Sullivan G. M, and Kerry P. J., (2010). In: *Handbook of meat processing*. Toldrá, F, John Wiley & Sons.

405. Okolie, N. P., Akioyamen, M. O., Okpoba, N., Okonkwo, C. (2009). Malondialdehyde levels of frozen fish, chicken and turkey on sale in Benin City markets. *African Journal of Biotechnology*, 8, 6638-6640.
406. Olesen, P. T., Stahnke, L. H., Talon, R. (2004). Effect of ascorbate, nitrate and nitrite on the amount of flavour compounds produced from leucine by *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus*. *Meat science*, 68(2), 193-200.
407. Old DC. Nomenclature of *Salmonella*. *J Med Microbiol* 1992;37:361-3.
408. Orčić, D.Z., Mimica-Dukić, N.M., Francišković, M.M., Petrović, S.S., and Jovin, E.D. (2011). Antioxidant Activity Relationship of Phenolic Compounds in Hypericum Perforatum L. *Chemistry Central Journal* 5: 34.
409. Oscar, T. P. (2014). General regression neural network model for behavior of *Salmonella* on chicken meat during cold storage. *Journal of food science*, 79(5), 978-987.
410. Ospina Meneses, S. M., Cartagena Valenzuela, J. R. (2012). La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos.
411. Ozimek L, Pospiech E, Narine S. (2010). Nanotechnologies in food and meat processing. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 9(4): 401-12.
412. Özoġul, F., Özoġul, Y. (2000). Comparison of methods used for determination of total volatile basic nitrogen (TVB-N) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Zoology*, 24(1), 113–120.
413. Pan, Z. M., Wang, X. Q., Zhang, X. M., Geng, S. Z., Chen, X., Pan, W. J., et al. (2009). Changes in antimicrobial resistance among *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar *Pullorum* isolates in China from 1962 to 2007. *Veterinary Microbiology*, 136, 387–392.
414. Penner JL. International Committee on Systematic Bacteriology Taxonomic Subcommittee on *Enterobacteriaceae*. *Int J Syst Bacteriol* 1988;38:223-4.
415. Panoff, J. M., Thammavongs, B., Guéguen, M., Boutibonnes, P. (1998). Cold stress responses in mesophilic bacteria. *Cryobiology*, 36(2), 75-83.
416. Parry, R. T. (1993). *Principles and applications of modified atmosphere packaging of foods*. Blackie Academic & Professional.
417. Pathania, A., McKee, S. R., Bilgili, S. F., Singh, M. (2010). Inhibition of Nalidixic Acid-Resistant *Salmonella* on Marinated Chicken Skin. *Journal of Food Protection*, 73(11), 2072-2078.

418. Patel, T. A., Armstrong, M., Morris-Jones, S. D., Wright, S. G., Doherty, T. (2010). Imported enteric fever: case series from the hospital for tropical diseases, London, United Kingdom. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 82(6), 1121-1126.
419. Patsias, A., Chouliara, I., Paleologos, E. K., Savvaidis, I., Kontominas, M. G. (2006). Relation of biogenic amines to microbial and sensory changes of precooked chicken meat stored aerobically and under modified atmosphere packaging at 4 C. *European Food Research and Technology*, 223(5), 683-689.
420. Pavel, M., Ristic, M., Stevic, T. (2010). Essential oils of *Thymus pulegioides* and *Thymus glabrescens* from Romania: chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75, 27–34.
421. Pavelková, A., Kačániová, M., Horská, E., Rovná, K., Hleba, L., Petrová, J. (2014). The effect of vacuum packaging, EDTA, oregano and thyme oils on the microbiological quality of chicken's breast. *Anaerobe*, 29, 128-133.
422. Pegues DA, Ohl ME, Miller SI. (2005) *Salmonella* species, including *Salmonell* Typhi. In: Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 6th ed. New York [u.a.]: Churchill Livingstone.
423. Peisker, M. (2006). Feed processing – Impacts on nutritive value and hygienic status in broiler feeds. In: Proceedings of the 18th Australian Poultry Science Symposium, Sydney, New South Wales, Australia, pp. 7–16.
424. Pereira, P. M. D. C. C., Vicente, A. F. D. R. B. (2013). Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Science*, 93(3), 586-592.
425. Perricone, M., Arace, E., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., Bevilacqua, A. (2015). Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Frontiers in microbiology*, 6, 1-7.
426. Pesavento, G., Calonico, C., Bilia, A. R., Barnabei, M., Calesini, F., Addona, R., ... & Nostro, A. L. (2015). Antibacterial activity of Oregano, Rosmarinus and Thymus essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. *Food Control*, 54, 188-199.
427. Petäjä-Kanninen, E., Puolanne, E. (2007). Principles of meat fermentation. *Handbook of Fermented Meat and Poultry*, 31-35.
428. Petrou, S., Tsiraki, M., Gitrakou, V., Savvaidis, I. N. (2012). Chitosan dipping or oregano oil treatments, singly or combined on modified atmosphere packaged chicken breast meat. *International journal of food microbiology*, 156(3), 264-271.

429. Pirbaloutl, A. G. (2009). Medicinal plants used in Chaharmahal and Bakhtyari districts of Iran. *Herba Polonica*, 55, 69-77.
430. Plazonić, S., Mioković, B., Njari, B. (2010). Pakiranje mesa u modificiranoj atmosferi. *MESO: prvi hrvatski časopis o mesu*, 12(1), 45-48.
431. Podolak, R., Enache, E., Stone, W., Black, D. G., Elliott, P. H. (2010). Sources and risk factors for contamination, survival, persistence, and heat resistance of *Salmonella* in low-moisture foods. *Journal of Food Protection*, 73, 1919–1936.
432. Pohan, H. T. (2004). Clinical and laboratory manifestations of typhoid fever at Persahabatan Hospital, Jakarta. *Headache*, 59, 94-9.
433. Poppe, C. (1999). Epidemiology of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. In A. M. Saeed, R. K. Gast, M. E. Potter, P. G. Wall (Eds.), *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in humans and animals (pp. 3–18). Ames: Iowa State University Press.
434. Popoff, M. Y., L. Le Minor. (1997). Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars, 7th revision. World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Pasteur Institute, Paris, France.
435. Popoff, M. Y., J. BockemuÈhl, F. W. Brenner. (2000). Supplement 1998 (no. 42) to the Kauffmann-White scheme. *Res. Microbiol.* 151:63-65.
436. Popoff MY, Le Minor L. (2001) Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars, 8th revision. Paris: World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Pasteur Institute.
437. Popoff MY, Bockemühl J, Gheesling LL. Supplement (2002) (no. 46) to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol* 2004; 155:568-570.
438. Popoff, M. Y., Bockemühl, J., Gheesling, L. L. (2004). Supplement 2002 (no. 46) to the Kauffmann–White scheme. *Research in microbiology*, 155(7), 568-570.
439. Pothakos, V., Samapundo, S., Devlieghere, F. (2012). Total mesophilic counts underestimate in many cases the contamination levels of psychrotrophic lactic acid bacteria (LAB) in chilled-stored food products at the end of their shelf-life. *Food microbiology*, 32(2), 437-443.
440. Pothakos, V., Devlieghere, F., Villani, F., Björkroth, J., Ercolini, D. (2015). Lactic acid bacteria and their controversial role in fresh meat spoilage. *Meat science*, 109, 66-74.
441. Poulose, A. J., Croteau, R. (1978). Biosynthesis of aromatic monoterpenes: conversion of  $\gamma$ -terpinene to p-cymene and thymol in *Thymus vulgaris* L. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 187(2), 307-314.

442. Prendergast, D. M., Duggan, S. J., Gonzales-Barron, U., Fanning, S., Butler, F., Cormican, M., Duffy, G. (2009). Prevalence, numbers and characteristics of *Salmonella* spp.. on Irish retail pork. *International journal of food microbiology*, 131(2), 233-239.
443. Prouty, A. M., Gunn, J. S. (2000). *Salmonella enterica* serovar typhimurium invasion is repressed in the presence of bile. *Infection and immunity*, 68(12), 6763-6769.
444. Provincial, L., Guillén, E., Gil, M., Alonso, V., Roncalés, P., & Beltrán, J. A. (2013). Survival of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* in sea bream (*Sparus aurata*) fillets packaged under enriched CO<sub>2</sub> modified atmospheres. *International journal of food microbiology*, 162(3), 213-219.
445. Pui, C. F., Wong, W. C., Chai, L. C., Tunung, R., Ponniah, J., Anyi, U., ... & Radu, S. (2011). *Salmonella*: a foodborne pathogen. *International Food Research Journal*, 18(2), 465-473.
446. Purnell, G., James, C., Wilkin, C. A., James, S. J. (2010). An evaluation of improvements in carcass hygiene through the use of anal plugging of pig carcasses prior to scalding and dehairing. *Journal of Food Protection*, 73(6), 1108-1110.
447. Quiroz-Santiago, C., Rodas-Suárez, O. R., Carlos, R. V., Fernández, F. J., QuiñonesRamírez, E. I., Vázquez-Salinas, C. (2009). Prevalence of *Salmonella* in vegetables from Mexico. *Journal of Food Protection*, 72, 1279–1282.
448. Raharjo, S., Sofos, J. N. (1993). Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A review. *Meat Science*, 35(2), 145-169.
449. Ramel, C., Alekperov, U. K., Ames, B. N., Kada, T., Wattenberg, L. W. (1986). Inhibitors of mutagenesis and their relevance to carcinogenesis: report by ICPEMC expert group on antimutagens and desmutagens. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 168(1), 47-65.
450. Raut, J. S., Karuppayil, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62, 250-264.
451. Realini, C. E., Marcos, B. (2014). Active and intelligent packaging systems for a modern society. *Meat science*, 98(3), 404-419.
452. Reeves, M. W., Evins, G. M., Heiba, A. A., Plikaytis, B. D., Farmer, J. J. (1989). Clonal nature of *Salmonella typhi* and its genetic relatedness to other salmonellae as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori* comb. nov. *Journal of clinical microbiology*, 27(2), 313-320.

453. Riemann, H. P., Cliver, D. O., (2006). *Foodborne infections and intoxications*. Third edition, Academic Press.
454. Reza Gheisari, H., Aminlari, M., Shahram Shekarforoush, S. (2009). A comparative study of the biochemical and functional properties of camel and cattle meat during frozen storage. *Veterinarski arhiv*, 79, 51-68.
455. Reynolds AE. (2003). Utllization of spray wash with organic acids (peroxyacetic acid and lactic acid) and chlorinated wash in combination, utilizing direct application methods, for pathogen reduction on pork and beef carcasses in small and very small meat processing plants. Available from:[http://www.fsis.usda.gov/PDF/New\\_Technology\\_C29\\_SummaryFY2003.pdf](http://www.fsis.usda.gov/PDF/New_Technology_C29_SummaryFY2003.pdf) Food Safety and Inspection Service. Accessed October 6, 2011.
456. Richards, M. P., Modra, A. M., Li, R. (2002). Role of deoxyhemoglobin in lipid oxidation of washed cod muscle mediated by trout, poultry and beef hemoglobins. *Meat science*, 62, 157-163.
457. Ricke C. S. , Ok-Kyung Koo , Foley S., Nayak R., 2013, *Salmonella*, In Labbé G. R., García S., Guide to Foodborne Pathogens. John Wiley & Sons, Ltd.
458. Ripoll, G., Joy, M., Muñoz, F. (2011). Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the shelf life of modified atmosphere packaged light lamb meat. *Meat science*, 87, 88-93.
459. Rhim J W, Park H M, Ha C S. (2013). Bio-nanocomposites for food packaging , applications, Progress in Polymer Science; 38(10): 1629– 52.
460. Roberts, C. M. (2006). Radio frequency identification (RFID). *Computers & Security*, 25(1), 18-26.
461. Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A. H., Khalel, K. I. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 43, 827-831.
462. Rossel, R., Rouillier, J., Beloeil, P., Chauvin, C., Basta, F., Crabos, J., & Theau-Audin, S. (2006). *Salmonella* en élevages de porcs du Sud-Ouest de la France: séroprévalence en fin d'engraissement et facteurs de risqué associés.Journees de la recherche porcine en france, 38, 371.
463. Rostagno, M. H., Callaway, T. R. (2012). Pre-harvest risk factors for *Salmonella enterica* in pork production. *Food Research International*, 45(2), 634-640.

464. Rouatbi, M., Duquenoy, A., Giampaoli, P. (2007). Extraction of the essential oil of thyme and black pepper by superheated steam. *Journal of food engineering*, 78, 708-714.
465. Rowbury, R. J. (2003). Physiology and molecular basis of stress adaptation, with particular reference to the subversion of stress adaptation, and to the involvement of extracellular components in adaptation. *Microbial stress adaptation and food safety*, 247-302.
466. Rowshana, V., Bahmanzadegana, A., Saharkhizb, M.J. (2013). Influence of storage conditions on the essential oil composition of *Thymus daenensis* Celak. Ind. Crops Prod. 49, 97-101.
467. Rubio, J. A., Rubio, M. A., Cabrerizo, L., Burdaspal, P., Carretero, R., Gomez-Gerique, J. A., ... Fernandez, C. (2006). Effects of pork vs veal consumption on serum lipids in healthy subjects. *Nutrición Hospitalaria*, 21(1).
468. Ruiz, R. B., & Hernández, P. S. (2014). Diet and cancer: risk factors and epidemiological evidence. *Maturitas*, 77(3), 202-208.
469. Ruiz-Capillas, C., Jimenez-Colmenero, F. (2010). Effect of an argon-containing packaging atmosphere on the quality of fresh port sausages during refrigerated storage. *Food Control* 21, 1331-1337.
470. Ruberto, G., Baratta, M. T. (2000). Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69, 167–174.
471. Säde, E., Murros, A., Björkroth, J. (2013). Predominant enterobacteria on modified-atmosphere packaged meat and poultry. *Food microbiology*, 34(2), 252-258.
472. Samelis, J., Blackburn, C. D. W. (2006). Managing microbial spoilage in the meat industry. *Food spoilage microorganisms*, 213-286.
473. Sample, S. (2013). Oxidation and antioxidants in fish and meat from farm to fork. In I. Muzzalupo (Ed.), *Food industry* (pp. 114–144). Croatia: InTech Publishing
474. Sánchez-Vargas, F. M., Abu-El-Haija, M. A., Gómez-Duarte, O. G. (2011). *Salmonella* infections: An update on epidemiology, management, and prevention. *Travel medicine and infectious disease*, 9(6), 263-277.
475. Sanjuás-Rey, M., Pourashouri, P., Barros-Velázquez, J., Aubourg, S. P. (2012). Effect of oregano and thyme essential oils on the microbiological and chemical quality of refrigerated (4° C) ready-to-eat squid rings. *International Journal of Food Science & Technology*, 47, 1439-1447.

476. Santillana Farakos, S. M., Frank, J. F., Schaffner, D. W. (2013). Modeling the influence of temperature, water activity and water mobility on the persistence of *Salmonella* in low-moisture foods. *International journal of food microbiology*, 166(2), 280-293.
477. Sato, K., Hegarty, G. R. (1971). Warmed over flavour in cooked meats. *Journal of Food Science*, 36, 1098-1102.
478. Savell, J. W., Mueller, S. L., Baird, B. E. (2004). The chilling of carcasses. Finland: 50th ICoMST Helsinki.
479. Sawaya, W. N., Elnawawy, A. S., Abu-Ruwaida, A. S., Khalafawi, S., Dashti, B. (1995). Influence of modified atmosphere packaging on shelf-life of chicken carcasses under refrigerated storage conditions. *Journal of food safety*, 15(1), 35-51.
480. Selke, M., Meens, J., Springer, S., Frank, R., Gerlach, G.F. (2007). Immunization of pigs to prevent disease in humans: Construction and protective efficacy of a *Salmonella enterica* serovar Typhimurium live negative-marker vaccine. *Infection and Immunity* 75, 2476–2483.
481. Schaffner, D. W., Buchanan, R. L., Calhoun, S., Danyluk, M. D., Harris, L. J., Djordjevic, D., ... & Wiedmann, M. (2013). Issues To Consider When Setting Intervention Targets with Limited Data for Low-Moisture Food Commodities: A Peanut Case Study. *Journal of Food Protection*, 76(2), 360-369.
482. Schneider, J. L., White, P. L., Weiss, J., Norton, D., Lidgard, J., Gould, L. H., ... & Mohle-Boetani, J. (2011). Multistate outbreak of multidrug-resistant *Salmonella* Newport infections associated with ground beef, October to December 2007. *Journal of Food Protection*, 74(8), 1315-1319.
483. Shachar, D., Yaron, S. (2006). Heat tolerance of *Salmonella enterica* serovars Agona, Enteritidis, and Typhimurium in peanut butter. *Journal of Food Protection*, 69, 2687–2691.
484. Shahidi, F. (1994). Flavor of meat and meat products—an overview. In *Flavor of meat and meat products* (pp. 1-3). Springer US.
485. Sharma, G. P., Prasad, S. (2001). Drying of garlic (*Allium sativum*) cloves by microwave-hot air combination. *Journal of Food Engineering*, 50(2), 99-105.
486. Scherer, S., Neuhaus, K. (2006). Life at low temperatures. In *The prokaryotes* (pp. 210-262). Springer New York.
487. Schönenbrücher, V., Mallinson, E. T., Bülte, M. (2008). A comparison of standard cultural methods for the detection of foodborne *Salmonella* species including three

- new chromogenic plating media. *International journal of food microbiology*, 123(1), 61-66.
488. Shelef, L. A., Jyothi, E. K., Bulgarellii, M. A. (1984). Growth of enteropathogenic and spoilage bacteria in sage-containing broth and foods. *Journal of Food Science*, 49(3), 737-740.
489. Shelobolina ES, Sullivan SA, O'Neill KR, Nevin KP, Lovley DR (2004) Isolation, characterization, and U(VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate- and U(VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella* subterranean sp. nov. *Appl Environ Microbiol* 70:2959-2965
490. Shen, S., Zhang, T., Yuan, Y., Lin, S., Xu, J., Ye, H. (2015). Effects of cinnamaldehyde on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* membrane. *Food Control*, 47, 196-202.
491. Shimoni, Z., Pitlik, S., Leibovici, L., Samra, Z., Konigsberger, H., Drucker, M., ... & Weinberger, M. (1999). Nontyphoid *Salmonella* bacteremia: age-related differences in clinical presentation, bacteriology, and outcome. *Clinical infectious diseases*, 28(4), 822-827.
492. Silva, F. V., Gibbs, P. A. (2012). Thermal pasteurization requirements for the inactivation of *Salmonella* in foods. *Food Research International*, 45(2), 695-699.
493. Silvestre C, Duraccio D, Cimmino S. Food packaging based on polymer nanomaterials. *Progress in Polymer Science* 2011; 36(12): 1766-82.
494. Simitzis, P. E., S. G. Deligeorgis, J. A. Bizelis, A. Dardamani, I. Theodosiou, and K. Fegeros. "Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics." *Meat Science* 79, no. 2 (2008): 217-223.
495. Simitzis, P. E., Deligeorgis, S. G. (2010). Lipid oxidation of meat and use of essential oils as antioxidants in meat products.
496. Singh, P., Wani, A. A., Saengerlaub, S., Langowski, H. C. (2011). Understanding critical factors for the quality and shelf-life of MAP fresh meat: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 51(2), 146-177.
497. Skandamis, P., Tsigarida, E., Nychas, G. E. (2002). The effect of oregano essential oil on survival/death of *Salmonella typhimurium* in meat stored at 5 C under aerobic, VP/MAP conditions. *Food Microbiology*, 19(1), 97-103.

498. Skandamis, P. N., Nychas, G. J. E. (2002). Preservation of fresh meat with active and modified atmosphere packaging conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 79, 1, 35-45.
499. Smith T (1894) The hog-cholera group of bacteria. U.S. Bur Anim Ind Bull 6:6-40.
500. Smith, R. L., Cohen, S. M., Doull, J., Feron, V. J., Goodman, J. I., Marnett, L. J., ... & Higley, N. A. (2005). A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils. *Food and chemical toxicology*, 43(3), 345-363.
501. Sofos, J. N. (2008). Challenges to meat safety in the 21st century. *Meat science*, 78(1), 3-13.
502. Soldatou, N., Nerantzaki, A., Kontominas, M. G., Savvaidis, I. N. (2009). Physicochemical and microbiological changes of "Souvlaki"—A Greek delicacy lamb meat product: Evaluation of shelf-life using microbial, colour and lipid oxidation parameters. *Food Chemistry*, 113(1), 36-42.
503. Solomakos, N., Govaris, A., Koidis, P., Botsoglou, N. (2008). The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. *Food Microbiology*, 25(1), 120-127.
504. Soumpasis, I., Alban, L., Butler, F. (2012). Controlling *Salmonella* infections in pig farms: A framework modelling approach. *Food Research International*, 45(2), 1139-1148.
505. Sperber, W. H., Doyle, M. P. (2009). *Compendium of the microbiological spoilage of food and beverages*. New York, NY, USA: Springer.
506. Su, L., Chiu, C. (2007). *Salmonella*: clinical importance and evolution of nomenclature. *Chang Gung medical journal*, 30, 3, 210–9.
507. Sun, X. D., Holley, R. A. (2012). Antimicrobial and antioxidative strategies to reduce pathogens and extend the shelf life of fresh red meats. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 11(4), 340-354.
508. Svoboda, K. P., Greenaway, R. I. (2003). Investigation of volatile oil glands of *Satureja hortensis* L.(summer savory) and phytochemical comparison of different varieties. *International Journal of Aromatherapy*, 13(4), 196-202.

509. Swanenburg, M., Urlings, H. A. P., Keuzenkamp, D. A., Snijders, J. M. A. (2001). *Salmonella* in the lairage of pig slaughterhouses. *Journal of Food Protection*, 64, 12–16.
510. Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food control*, 21(9), 1199-1218.
511. Tarladgis, B. G., Watts, B. M., Younathan, M. T., Dugan Jr, L. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 37, 44-48.
512. Taylor, A. A. (1985). Packaging fresh meat. *Developments in meat science*, 3, 89-113.
513. Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., ... & Nunes, M. L. (2013). Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(11), 2707-2714.
514. Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Polissiou, M., & Sokmen, A. (2005). Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *Journal of Food Engineering*, 66, 447-454.
515. Tesoriere, L., D'Arpa, D., Butera, D., Pintaudi, A. M., Allegra, M., Livrea, M. A. (2002). Exposure to malondialdehyde induces an early redox unbalance preceding membrane toxicity in human erythrocytes. *Free radical research*, 36, 89-97.
516. Teunis, P. F., Kasuga, F., Fazil, A., Ogden, I. D., Rotariu, O., & Strachan, N. J. (2010). Dose-response modeling of *Salmonella* using outbreak data. *International journal of food microbiology*, 144(2), 243-249.
517. Tindall, B. J., Grimont, P. A. D., Garrity, G. M., & Euzeby, J. P. (2005). Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 55(1), 521-524.
518. Tisserand, R., Young, R. (2013). *Essential oil safety: a guide for health care professionals*. Elsevier Health Sciences.
519. Thielman, N. M., Guerrant, R. L. (2004). Acute infectious diarrhea. *New England Journal of Medicine*, 350(1), 38-47.
520. Todar, K. (2006). *Todar's online textbook of bacteriology*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology.
521. Toldrá, F., Flores, M. (2000). The use of muscle enzymes as predictors of pork meat quality. *Food Chemistry*, 69(4), 387-395.

522. Toldrá, Fidel. "The role of muscle enzymes in dry-cured meat products with different drying conditions." *Trends in Food Science & Technology* 17, no. 4 (2006): 164-168.
523. Toldrá, F. (2010). *Handbook of meat processing*. John Wiley & Sons.
524. Tomaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Sulfaro, V., De Pasquale, A., & Saija, A. (2005). Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food Chemistry*, 89, 549-554.
525. Tomankova, J., Borilova, G., Steinhauervoia, I., Las, G., 2012. Volatile organic compounds as biomarkers of the freshness of poultry meat packaged in modified atmosphere. *Czech J. Food Sci.* 30, 395-403.
526. Tongnuanchan, P., Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79, 1231-1249.
527. Turgis, M., Vu, K. D., Dupont, C., Lacroix, M. (2012). Combined antimicrobial effect of essential oils and bacteriocins against foodborne pathogens and food spoilage bacteria. *Food Research International*, 48(2), 696-702.
528. Ultee, A., Kets, E. P. W., Smid, E. J. (1999). Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology*, 65(10), 4606-4610.
529. Ultee, A., Slump, R. A., Steging, G., Smid, E. J. (2000). Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. *Journal of Food Protection*, 63(5), 620-624.
530. Ultee, A., Bennik, M. H. J., Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology*, 68(4), 1561-1568.
531. Vaara, M. (1992). Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiological reviews*, 56(3), 395-411.
532. Valdezate, S., Vidal, A., Herrera-Leon, S., Pozo, J., Rubio, P., Usera, M.A., Carvajal, A., Echeita, M.A., 2005. *Salmonella Derby* clonal spread from pork. *Emerging Infectious Diseases* 11, 694–698.
533. Van Doren, J. M., Neil, K. P., Parish, M., Gieraltowski, L., Gould, L. H., & Gombas, K. L. (2013). Foodborne illness outbreaks from microbial contaminants in spices, 1973–2010. *Food microbiology*, 36(2), 456-464.
534. Van Haute, S., Raes, K., Van Der Meeren, P., Sampers, I. (2016). The effect of cinnamon, oregano and thyme essential oils in marinade on the microbial shelf life of fish and meat products. *Food Control*, 68, 30-39.

535. Van Hoek, A. H., De Jonge, R., Van Overbeek, W. M., Bouw, E., Pielaat, A., Smid, J. H., ...& Heres, L. (2012). A quantitative approach towards a better understanding of the dynamics of *Salmonella* spp.. in a pork slaughter-line. *International journal of food microbiology*, 153(1), 45-52.
536. van Pelt, W., van Giessen, A., van Leeuwen, W., Wannet, W., Henken, A., Evers, E., de Wit, M., van Duynhoven, Y. (2000). Oorsprong, omvang en kosten van humane salmonellose. *Infectieziekten Bulletin* 11, 4–8.
537. Velasco, V., Williams, P. (2011). Improving meat quality through natural antioxidants. *Chilean journal of agricultural research*, 71, 313-322.
538. Vestergaard, C. S., Schivazappa, C., Virgili, R. (2000). Lipolysis in dry-cured ham maturation. *Meat Science*, 55, 1-5.
539. Visscher, C.F., Klein, G., Verspohl, J., Beyerbach, M., Stratmann-Selke, J., Kamphues, J. (2011). Serodiversity and serological as well as cultural distribution of *Salmonella* on farms and in abattoirs in Lower Saxony, Germany. *International Journal of Food Microbiology* 146, 44–51.
540. Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J. A. (2009). Effect of adding citrus waste water, thyme and oregano essential oil on the chemical, physical and sensory characteristics of a bologna sausage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10, 655-660.
541. Voetsch, A. C., T. J. Van Gilder, F. J. Angulo, M. M. Farley, S. Shallow, R. Marcus, P. R. Cieslak, V. C. Deneen, and R. V. Tauxe. (2004). FoodNet estimate of the burden of illness caused by nontyphoidal *Salmonella* infections in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 38 (Suppl. 3):S127–S134
542. Vranić, D., Milijašević, M., Petrović, Z., Đinović-Stojanović, J., Jovanović, J., Lilić, S., Radivoj, P. (2012). Uticaj vakuum pakovanja na hemijske promene u ohlađenom goveđem mesu/The effect of vacuum packaging on chemical changes in chilled beef. *Tehnologija mesa*, 2, 112-120.
543. Vuković-Gačić, B., Nikčević, S., Berić-Bjedov, T., Knežević-Vukčević, J., Simić, D. (2006). Antimutagenic effect of essential oil of sage (*Salvia officinalis* L.) and its monoterpenes against UV-induced mutations in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food and chemical toxicology*, 44(10), 1730-1738.
544. Vuković, I., Vasilev, D., Saičić, S., Ivanković, S. (2012). Ispitivanje važnijih promena u toku zrenja tradicionalne fermentisane kobasice lemeški kulen/Investigation of

major changes during ripening of traditional fermented sausage Lemeški kulen. *Tehnologija mesa*

545. Wang, L., Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312.
546. Webb, E. C., H. A. O'neill (2008). "The animal fat paradox and meat quality." *Meat Science* 80, 1: 28-36.
547. Wan Norhana, M. N., Poole, S. E., Deeth, H. C., Dykes, G. A. (2010). Prevalence, persistence and control of *Salmonella* and *Listeria* in shrimp and shrimp products: A review. *Food Control*, 21,343–361.
548. Warriner, K., Aldsworth, T.G., Kaur, S., Dodd, C.E.R., (2002). Cross-contamination of carcasses and equipment during pork processing. *Journal of Applied Microbiology* 93, 169–177.
549. Weiss, J., Gibis, M., Schuh, V., Salminen, H. (2010). Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat science*, 86(1), 196-213.
550. Wilkinson, B. H. P., J. A. M. Janz, P. C. H. Morel, R. W. Purchas, and W. H. Hendriks. (2006). The effect of modified atmosphere packaging with carbon monoxide on the storage quality of master packaged fresh pork. *Meat Science* 75 ( 4 ): 605 – 610.
551. Williamson, C. S., Foster, R. K., Stanner, S. A., Buttriss, J. L. (2005). Red meat in the diet. *Nutrition Bulletin*, 30(4), 323-355.
552. Wong, D. L. F., Hald, T., Van Der Wolf, P. J., Swanenburg, M. (2002). Epidemiology and control measures for *Salmonella* in pigs and pork. *Livestock Production Science*, 76(3), 215-222.
553. Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Richardson, R. I., Sheard, P. R. (1999). Manipulating meat quality and composition. *Proceedings of the nutrition society*, 58(2), 363-370
554. Wyness, L., Weichselbaum, E., O'Connor, A., Williams, E. B., Benelam, B., Riley, H., Stanner, S. (2011). Red meat in the diet: an update. *Nutrition Bulletin*, 36(1), 34-77.
555. Wei, A., Shibamoto, T. (2010). Antioxidant/lipoxygenase inhibitory activities and chemical compositions of selected essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(12), 7218-7225.
556. Wills, R. W., Gray, J. T., Fedorka-Cray, P. J., Yoon, K. J., Ladely, S., Zimmerman, J. J. (2000). Synergism between porcine reproductive and respiratory syndrome virus

- (PRRSV) and *Salmonella choleraesuis* in swine. *Veterinary Microbiology*, 71, 177–192.
557. World Health Organization (WHO). Background document: the diagnosis, treatment and prevention of typhoid fever. Geneva: World Health Organization; 2003. 1-38.
558. Provincial, L., Guillén, E., Gil, M., Alonso, V., Roncalés, P., Beltrán, J. A. (2013).
559. Williamson, C. S., Foster, R. K., Stanner, S. A., Buttriss, J. L. (2005). Red meat in the diet. *Nutrition Bulletin*, 30(4), 323-355.
560. Wsowicz, E., Gramza, A., Héoe, M., Jeleñ, H. H., Korczak, J., Maecka, M., et al. (2004). Oxidation of lipids in food. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 13, 87–100.
561. Wong, E., Linton, R. H., Gerrard, D. E. (1998). Reduction of *Escherichia coli* and *Salmonella senftenberg* on pork skin and port muscle using ultraviolet light. *Food Microbiology*, 15, 415–423.
562. Xiong , Y. L. (2000). Protein oxidation and implications for muscle food quality . In *Antioxidants in Muscle Foods* , edited by E. A. Decker , C. Faustman , C. J. Lopez - Bote . New York : John Wiley & Sons.
563. Yates, A. (2011). *Salmonella* (non-typoidal). In D. Craig, A. Bartholomaeus (Eds.), Agents of Foodborne Illness. Canberra: Food Standards Australia New Zealand.
564. Yılmaz, I., Demirci, M. (2010). Effect of different packaging methods and storage temperature on microbiological and physicochemical quality characteristics of meatball. *Food Science and Technology International*.
565. Yen, Y. F., Wang, F. D., Chiou, C. S., Chen, Y. Y., Lin, M. L., Chen, T. L., Liu, C. Y. (2009). Prognostic Factors and Clinical Features of Non-typhoid *Salmonella* Bacteremia in Adults. *Journal of the Chinese Medical Association*, 72(8), 408-413.
566. Yoon, W. J., Kim, S. S., Oh, T. H., Lee, N. H., Hyun, C. G. (2009). *Torreya nucifera* essential oil inhibits skin pathogen growth and lipopolysaccharide-induced inflammatory effects. *IJP-International Journal of Pharmacology*, 5(1), 37-43.
567. Yunes, R.A.; Cechinel Filho, V. *Química de Produtos Naturais, Novos fármacos e a Moderna Farmacognosia*, 2nd ed.; Univale Editora: Itajaí, Brasil, 2009; pp. 219–256.
568. Zaidenstein, R., Peretz, C., Nissan, I., Reisfeld, A., Yaron, S., Agmon, V., Weinberger, M. (2010). The epidemiology of extraintestinal non-typhoid *Salmonella* in Israel: the effects of patients' age and sex. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 29(9), 1103-1109.

569. Zakrys, P. I., Hogan, S. A., O'sullivan, M. G., Allen, P., Kerry, J. P. (2008). Effects of oxygen concentration on the sensory evaluation and quality indicators of beef muscle packed under modified atmosphere. *Meat Science*, 79(4), 648-655.
570. Zakrys, P. I., O'Sullivan, M. G., Allen, P., Kerry, J. P. (2009). Consumer acceptability and physiochemical characteristics of modified atmosphere packed beef steaks. *Meat science*, 81(4), 720-725.
571. Zhang, Z., Tong, J., Chen, D., Lan, Y. (2008). Electronic nose with an air sensor matrix for detecting beef freshness. *Journal of Bionic Engineering*, 5(1), 67–73.
572. Zhang, W., Xiao, S., Ahn, D. U. (2013). Protein oxidation: basic principles and implications for meat quality. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53, 1191-1201.
573. Zhang, H., Kong, B., Xiong, Y. L., Sun, X. (2009). Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4 C. *Meat Science*, 81(4), 686-692.
574. Zarate, J. R., Zaritzky, N. E. (1985). Production of weep in packaged refrigerated beef. *Journal of Food Science*, 50, 155–159. 191.
575. Zhou, G. H., Xu, X. L., Liu, Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat—A review. *Meat science*, 86(1), 119-128.
576. Zhou, F., Ji, B., Zhang, H., Jiang, H. U. I., Yang, Z., Li, J., ... Yan, W. (2007). The antibacterial effect of cinnamaldehyde, thymol, carvacrol and their combinations against the foodborne pathogen *Salmonella* typhimurium. *Journal of food safety*, 27(2), 124-133.
577. Zhou GH, Xu XL, Liu Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat: a review. *Meat Science* 86:119–28.
578. Zhao, S., White, D. G., Friedman, S. L., Glenn, A., Blickenstaff, K., Ayers, S. L., et al. (2008). Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar Heidelberg isolates from retail meats, including poultry, from 2002 to 2006. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 6656–6662.

## 9. PRILOZI

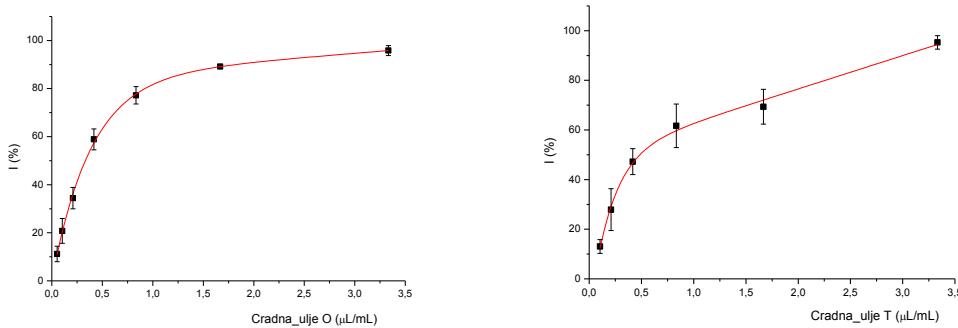
### PRILOG A

#### ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET ETARSKIH ULJA

Tabele 1-1. i 1-2: Vrednosti apsorbancija ( $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ ) uzoraka etarskih ulja u DPPH testu, rađenih na sedam različitih koncentracija etarskih ulja; korekcija za svaku koncentraciju (Akor) i kontrola (nulta koncentracija etarskog ulja), i na osnovu njih izračunate vrednosti inhibicije ( $I (\%) = 100 - ((A_i - A_{ikor}) / (A_K - A_{Kkor})) * 100$ )

100 %	$\mu\text{L}/mL$ Cpočetna	$\mu\text{L}/mL$ Cradna	Ulje-O					stdev	%		
			$A_1$	$A_2$	$A_3$	Akor	$I_1$	$I_2$	$I_3$		
30 $\mu\text{l}$ ulja/300 $\mu\text{l}$ EtOH	100,00	3,33	0,064	0,059	0,058	0,054	93,5	96,6	97,5	2,09	95,8
1/2	50,00	1,67	0,068	0,070	0,070	0,052	90,1	88,8	88,7	0,81	89,2
1/4	25,00	0,83	0,083	0,089	0,093	0,052	80,9	77,2	73,6	3,62	77,2
1/8	12,50	0,42	0,109	0,123	0,114	0,050	63,3	54,6	59,1	4,39	58,9
1/16	6,25	0,21	0,147	0,153	0,157	0,048	38,9	34,9	30,0	4,43	34,4
1/32	3,13	0,10	0,169	0,179	0,181	0,050	26,5	20,2	16,3	5,16	20,8
1/64	1,5625	0,05	0,190	0,199	0,195	0,053	15,1	9,8	9,4	3,21	11,2
	K		0,224	0,225	0,220	0,063	0,0	0,0	0,0	0,00	0,159
							IC50	2,84E-01	3,53E-01	3,58E-01	0,33±0,04 $\mu\text{L}/mL$

100 %	$\mu\text{L}/mL$ Cpočetna	$\mu\text{L}/mL$ Cradna	Ulje-T					stdev	%		
			$A_1$	$A_2$	$A_3$	Akor	$I_1$	$I_2$	$I_3$		
60 $\mu\text{l}$ ulja/300 $\mu\text{l}$ EtOH	181,82	6,06	0,056	0,058	0,059	0,072	109,9	109,1	107,8	1,08	108,9
1/2	90,91	3,03	0,064	0,073	0,068	0,061	97,9	92,5	95,5	2,74	95,3
1/4	45,45	1,52	0,088	0,100	0,114	0,052	76,5	69,3	62,5	7,01	69,3
1/8	22,73	0,76	0,082	0,108	0,110	0,047	77,3	61,7	62,6	8,77	61,7
1/16	11,36	0,38	0,121	0,137	0,140	0,048	53,2	43,5	44,9	5,22	47,2
1/32	5,68	0,19	0,152	0,164	0,188	0,053	35,7	29,1	18,9	8,44	27,9
1/64	2,8409	0,09	0,187	0,192	0,191	0,051	12,1	10,4	15,8	2,77	13,0
	K		0,203	0,206	0,215	0,048	0,0	0,0	0,0	0,00	0,160
							IC50	3,40E-01	4,94E-01	5,96E-01	0,48±0,13 $\mu\text{L}/mL$



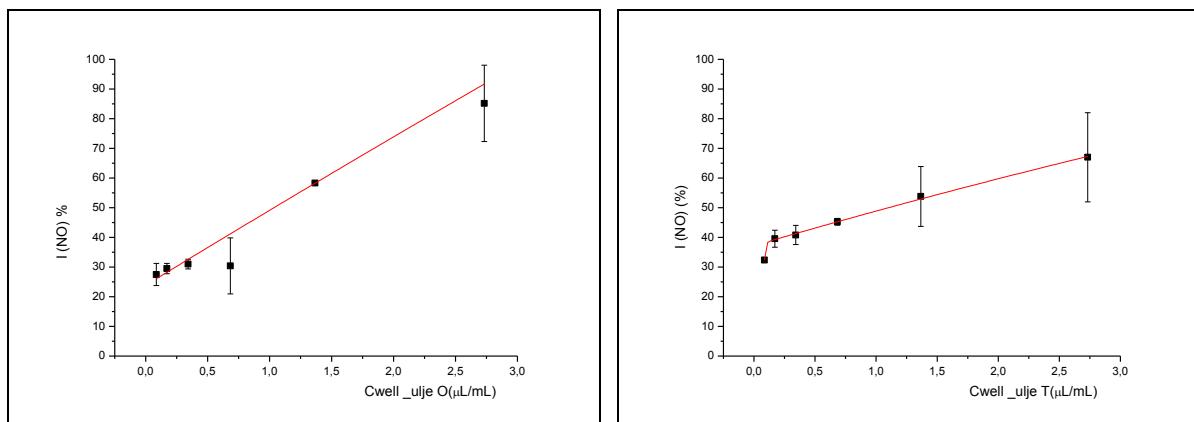
Grafici 1-1 i 1-2: Uz svaku tabelu prikazan je odgovarajući grafik zavisnosti stepena inhibicije ( $I (\%)$ ) od radne koncentracije etarskog ulja ( $c$ ,  $\mu\text{L}/mL$ ). Grafici su crtani u programu Origin 8.0 (uz ExpDec1 fit). Iz grafika su funkcijom find X from Y, očitavane  $IC_{50}$  vrednosti (koncentracija etarskog ulja pri kojoj je postignuto 50% inhibicije)

Tabele 2-1. i 2-2: Vrednosti apsorbancija ( $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ ) uzoraka etarskih ulja u NO testu, rađenih na sedam različitih koncentracija etarskih ulja; korekcija za svaku koncentraciju (Akor) i kontrolâ (nulta koncentracija etarskog ulja), i na osnovu njih izračunate vrednosti inhibicije ( $I (\%) = 100 - ((A_i - A_{ikor}) / (A_K - A_{Kkor})) * 100$ )

$\mu\text{L/mL}$	$\mu\text{L/mL}$	NO_Ulje-T							%	
Cpočetna	Cradna	A1	A2	A3	Akor	I1	I2	I3	stdev	I
333,33	5,46	0,308	0,334	0,389	0,361	118,1	109,5	90,2	14,26	106,0
166,67	2,73	0,420	0,457	0,506	0,365	81,5	67,7	51,4	15,04	67,0
83,33	1,37	0,393	0,394	0,443	0,276	60,5	58,6	42,1	10,11	53,8
41,67	0,68	0,281	0,270	0,271	0,115	44,0	45,5	46,2	1,14	45,3
20,83	0,34	0,224	0,235	0,233	0,059	44,3	38,1	39,7	3,22	40,8
10,42	0,17	0,222	0,224	0,235	0,052	42,4	39,4	36,6	2,87	39,6
5,2083	0,09	0,246	0,243	0,244	0,048	33,2	31,5	32,3	0,86	32,4
K		0,339	0,327	0,332	0,043	0,0	0,0	0,0	0,00	
						IC50	0,82	0,86	2,63	1,44±1,03
										0,290 $\mu\text{L/mL}$

$\mu\text{L/mL}$	$\mu\text{L/mL}$	NO_Ulje-O							%	
Cpočetna	Cradna	A1	A2	A3	Akor	I1	I2	I3	stdev	I
333,33	5,46	2,023	0,699	0,646	0,394	-435,5	-1,0	25,4	258,79	198,6
166,67	2,73	0,470	0,647	0,533	0,455	95,0		76,8	12,88	85,2
83,33	1,37	0,381	0,520	0,397	0,258	59,5		58,7	0,55	58,3
41,67	0,68	0,305	0,340	0,387	0,127	41,5	29,4	22,9	9,43	30,4
20,83	0,34	0,287	0,276	0,301	0,077	31,0	34,0	33,4	1,63	31,0
10,42	0,17	0,263	0,259	0,294	0,057	32,1	33,0	29,6	1,75	29,5
5,2083	0,09	0,281	0,270	0,281	0,052	24,9	28,0	32,4	3,74	27,5
K		0,346	0,344	0,380	0,042	0,0	0,0	0,0	0,00	
						IC50	9,91E-01	--	1,30	1,15±0,22
										0,315 $\mu\text{L/mL}$



Grafici 2-1 i 2-2: Uz svaku tabelu prikazan je odgovarajući grafik zavisnosti stepena inhibicije ( $I, \%$ ) od radne koncentracije etarskog ulja ( $c, \mu\text{L/mL}$ ). Grafici su crtani u programu Origin 8.0 (uz ExpDec1 fit). Iz grafika su funkcijom find X from Y, očitavane  $IC_{50}$  vrednosti (koncentracija etarskog ulja pri kojoj je postignuto 50% inhibicije)

Tabele 3-1. i 3-2: Vrednosti apsorbancija ( $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ ) uzoraka etarskih ulja u OH testu, rađenih na sedam različitih koncentracija etrarskih ulja; korekcija za svaku koncentraciju (Akor) i kontrolâ (nulta koncentracija etarskog ulja), i na osnovu njih izračunate vrednosti inhibicije ( $I (\%) = 100 - ((A_i - A_{ikor}) / (A_K - A_{Kkor})) * 100$ )

$\mu\text{L/mL}$	$\mu\text{L/mL}$	<i>OH_Ulje-T (belo)-ponovljeno-16.04.</i>							%	
Cpočetna	Cradna	A1	A2	A3	Akor	I1	I2	I3	stdev	I
500,00	1,95	0,469	0,526	0,587	0,066	-12,3	-27,1	-39,5	13,58	-26,5
250,00	0,98	0,385	0,393	0,417	0,062	10,2	8,7	5,2	2,58	8,0
125,00	0,49	0,413	0,371	0,388	0,057	0,9	13,3	11,4	6,64	8,6
62,50	0,24	0,421	0,374	0,363	0,057	-1,1	12,6	18,2	9,97	10,0
31,25	0,12	0,460	0,385	0,375	0,054	-13,1	8,6	14,2	14,44	3,4
15,63	0,06	0,437	0,460	0,432	0,054	-6,4	-12,1	-0,9	5,60	-6,4
7,8125	0,03	0,460	0,502	0,423	0,053	-13,5	-24,3	1,0	12,70	-12,1
K		<b>0,416</b>	<b>0,418</b>	<b>0,430</b>	0,056	0,0	0,0	0,0	0,00	<b>0,365</b>

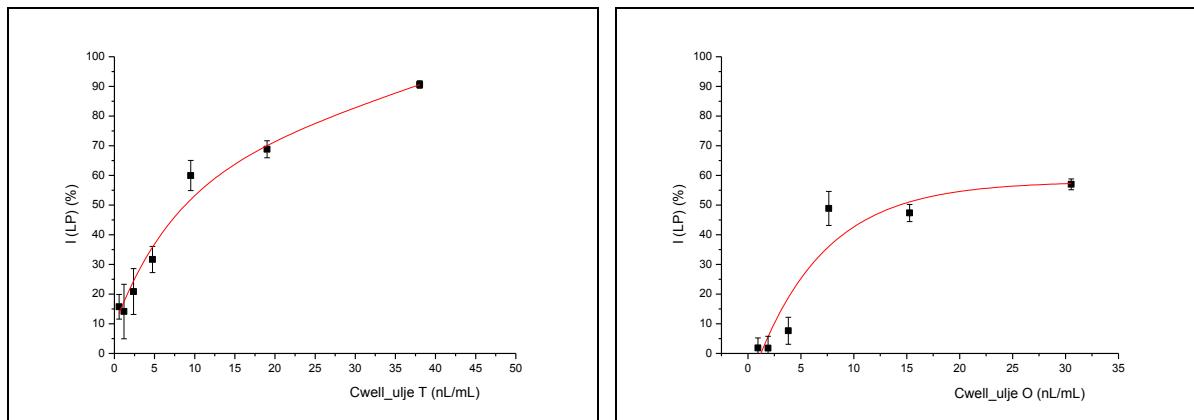
$\mu\text{L/mL}$	$\mu\text{L/mL}$	<i>OH_Ulje-O (žuto)-ponovljeno-16.04.</i>							%	
Cpočetna	Cradna	A1	A2	A3	Akor	I1	I2	I3	stdev	I
0,50	1,95	0,325	0,346	0,312	0,069	-26,5	-38,0	-21,7	8,39	-28,8
0,25	0,98	0,262	0,267	0,250	0,066	3,4	-0,1	7,5	3,80	3,6
0,13	0,49	0,254	0,228	0,233	0,062	5,3	17,5	14,1	6,34	12,2
0,06	0,24	0,261	0,234	0,247	0,062	1,8	14,5	7,0	6,38	7,7
0,03	0,12	0,248	0,210	0,231	0,055	4,8	22,8	11,7	9,10	13,0
0,02	0,06	0,232	0,232	0,233	0,057	13,8	13,0	11,8	0,99	12,8
0,0078	0,03	0,232	0,228	0,237	0,052	11,4	12,4	7,5	2,58	10,4
K		<b>0,255</b>	<b>0,253</b>	<b>0,252</b>	0,052	0,0	0,0	0,0	0,00	<b>0,201</b>

U ispitanim opsegu koncentracija nije postignuta  $IC_{50}$  vrednost (pri većim koncentracijama nije bilo moguće raditi zbog nerastvorljivosti uzorka u korišćenom puferskom sistemu).

Tabele 4-1. i 4-2: Vrednosti apsorbancija ( $A_1$ ,  $A_2$  i  $A_3$ ) uzoraka etarskih ulja u testu LP, rađenih na sedam različitih koncentracija etrarskih ulja; korekcija za svaku koncentraciju (Akor) i kontrolâ (nulta koncentracija etarskog ulja), i na osnovu njih izračunate vrednosti inhibicije ( $I (\%) = 100 - ((A_i - A_{ikor}) / (A_K - A_{Kkor})) * 100$ )

$\mu\text{l/mL}$	$\text{nl/mL}$	<i>LP_Ulje-T</i>							%	
Cpočetna	Cradna	A1	A2	A3	Akor	I1	I2	I3	stdev	I
10,0000	38,02	0,113	0,113	0,114	0,100	90,7	91,7	89,2	1,26	90,6
5,0000	19,01	0,124	0,132	0,130	0,058	71,7	68,3	66,1	2,86	68,8
2,5000	9,51	0,139	0,138	0,146	0,085	60,4	64,3	54,2	5,10	60,0
1,2500	4,75	0,145	0,153	0,152	0,054	33,7	34,0	26,2	4,40	31,7
0,6250	2,38	0,164	0,154	0,159	0,048	15,6	29,2	16,2	7,70	20,9
0,3125	1,19	0,174	0,161	0,169	0,183	7,8	24,1	8,6	9,18	14,1
0,1563	0,59	0,160	0,165	0,163	0,045	15,8	19,2	10,9	4,15	15,7
K		<b>0,182</b>	<b>0,194</b>	<b>0,177</b>	0,103	0,0	0,0	0,0	0,00	<b>0,140</b>
IC50							0,00707	0,00826	0,01015	8,5±1,5
										nL/mL

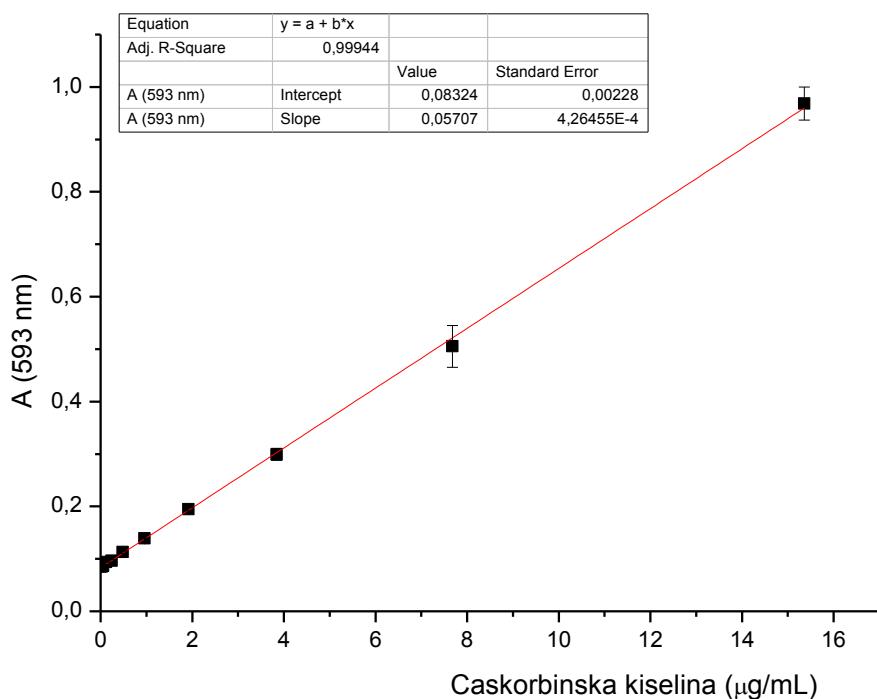
$\mu\text{L/mL}$	$nL/mL$	<i>LP_Ulje-O</i>						% I		
Cpočetna	Cradna	A1	A2	A3	Akor	I1	I2	I3	stdev	I
8,03213	30,54	0,124	0,127	0,124	0,072	57,8	54,9	58,3	1,83	57,0
4,01606	15,27	0,141	0,135	0,134	0,052	44,2	48,0	49,9	2,90	47,4
2,00803	7,64	0,143	0,146	0,158	0,087	53,9	50,3	42,7	5,74	48,9
1,00402	3,82	0,157	0,162	0,154	0,045	8,4	2,7	11,8	4,56	7,6
0,50201	1,91	0,165	0,170	0,165	0,075	3,6	-2,7	4,6	3,99	1,8
0,25100	0,95	0,169	0,167	0,164	0,047	0,0	0,0	5,8	3,34	1,9
0,12550	0,48	0,174	0,180	0,169	0,046	-4,4	-11,3	0,5	5,92	-5,1
	K	0,168	0,166	0,170	0,055	0,0	0,0	6,9	4,00	0,122
					IC50	0,01463	0,0136	0,01475	14,3±0,6	nL/mL



Grafići 4-1 i 4-2: Uz svaku tabelu prikazan je odgovarajući grafik zavisnosti stepena inhibicije (I, %) od radne koncentracije etarskog ulja (c,  $\mu\text{L/mL}$ ). Grafici su crtani u programu Origin 8.0 (uz ExpDec1 fit). Iz grafika su funkcijom find X from Y, očitavane IC<sub>50</sub> vrednosti (koncentracija etarskog ulja pri kojoj je postignuto 50% inhibicije).

Tabela 5-1: Vrednosti apsorbancija (A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> i A<sub>3</sub>) askorbinske kiseline, za crtanje kalibracione krive u testu ispitivanja ukupnog redoks kapaciteta etarskog ulja

Ascorbinska kiselina na 593 nm, $y=0,08324+0,05707x$ ( $R^2=0,99944$ )							
Cpočetna $\mu\text{g/mL}$	Cradna $\mu\text{g/mL}$	A1	A2	A3	Akor	A <sub>sr</sub> -Akor	stdev
153,6	15,36	1,009	0,962	1,022	0,029	0,968	0,032
76,8	7,68	0,497	0,531	0,576	0,029	0,505	0,040
38,4	3,84	0,316	0,331	0,339	0,030	0,299	0,011
19,2	1,92	0,223	0,227	0,221	0,029	0,195	0,003
9,6	0,96	0,167	0,166	0,166	0,027	0,139	0,001
4,8	0,48	0,143	0,141	0,138	0,028	0,113	0,002
2,4	0,24	0,126	0,123	0,122	0,027	0,096	0,002
1,2	0,12	0,122	0,118	0,127	0,028	0,094	0,005
0,6	0,06	0,115	0,114	0,114	0,028	0,087	0,001
0,3	0,03	0,113	0,118	0,111	0,029	0,085	0,003
0	0	0,113	0,111	0,113	0,027	0,085	0,001



Grafik 5-1: Kalibraciona kriva askorbinske kiseline, merena na 593 nm u FRAP testu

Tabela 5-2: Prikaz rezultata Frap testa, na ispitivanim etarskim uljima. Prikazane u dobijene apsorbance očitane na 593 nm na ThermoSkan čitaču mikrotitar ploča, kao i koncentracija etarskog ulja u well-u (radna koncentracija), ali i polazna koncentracija etarskog ulja. Sva merenja su rađena u tri ponavljanja na tri koncentracije. Rezultat je prikazan kao srednja vrednost mg ekv. Askorbinske kiseline/mL nerazblaženog etarskog ulja).

radna poč.	radna poč.	radna poč.	Akor		A3		A2		A1		μL/mL		Akor		A3		A2		A1		μL/mL		Akor		A3		A2		A1		μL/mL		[mg eq AA/mL]		[mg eq AA/mL]		±
			A3	A2	A1	μL/mL	A3	A2	A1	μL/mL	μL/mL	Akor	A3	A2	A1	μL/mL	μL/mL	Akor	A3	A2	A1	μL/mL	μL/mL	Akor	A3	A2	A1	μL/mL	μL/mL	[mg eq AA/mL]	[mg eq AA/mL]						
ulje O	0,078	2,269	2,369	2,467	0,333	10	0,052	1,482	1,485	1,540	0,167	5,0	0,045	0,851	0,890	0,735	0,083	2,5	116	144	147	135,4	16,86														
ulje T	0,154	1,774	1,904	1,831	0,333	10	0,071	1,150	1,174	1,235	0,167	5,0	0,050	0,706	0,741	0,635	0,083	2,5	84	109	118	103,5	17,49														

## PRILOG B

### Hemijski sastav mesa

**Tabela 1.** Prosečan hemijski sastav mlevenog mesa korišćenog u prvom delu ogleda na početku ispitivanja

	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
Voda	70,55	0,72	0,29	69,65	71,77	1,02%		
Proteini	21,15	0,65	0,27	20,09	22,13	3,07%		
Masti	7,15	0,04	0,02	7,07	7,19	0,59%		
Pepeo	1,09	0,05	0,02	1,05	1,18	4,47%		

**Tabela 2.** Prosečan hemijski sastav mlevenog mesa korišćenog u drugom delu ogleda na početku ispitivanja

	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
Voda	68,48	1,48	0,60	66,51	69,67	2,16%		
Proteini	20,57	1,02	0,42	19,11	22,10	4,96%		
Masti	10,31	0,69	0,28	9,16	11,03	6,67%		
Pepeo	1,05	0,05	0,02	0,99	1,11	4,37%		

## PRILOG C

Promene prosečnog broja *Salmonella* spp. tokom perioda skladištenja

**Tabela 1.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovano u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,22	0,01	0,004	6,21	6,24	0,17		
3	5,67	0,12	0,05	5,55	5,89	2,18		
6	5,36	0,07	0,03	5,28	5,45	1,24		
9	5,20	0,01	0,005	5,19	5,22	0,22		
12	4,83	0,10	0,04	4,68	4,96	2,07		
15	4,88	0,13	0,06	4,73	5,06	2,83		

**Tabela 2.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovano u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,20	0,01	0,006	6,18	6,22	0,24		
3	5,02	0,12	0,05	4,92	5,26	2,42		
6	5,01	0,10	0,04	4,90	5,13	1,92		
9	4,64	0,11	0,04	4,51	4,77	2,29		
12	4,31	0,07	0,03	4,22	4,39	1,58		
15	4,36	0,22	0,09	4,02	4,63	5,17		

**Tabela 3.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,19	0,01	0,006	6,18	6,22	0,24		
3	4,17	0,31	0,13	4,02	4,81	7,13		
6	4,32	0,25	0,10	4,03	4,61	5,68		
9	4,25	0,05	0,02	4,20	4,31	1,11		
12	4,00	0,05	0,02	3,93	4,09	1,34		
15	4,06	0,09	0,04	3,91	4,18	2,25		

**Tabela 4.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,16	0,03	0,01	6,10	6,19	0,56		
3	3,26	0,21	0,09	3,06	3,63	6,51		
6	3,12	0,04	0,01	3,08	3,17	1,14		
9	2,53	0,18	0,07	2,21	2,71	7,12		
12	2,12	0,15	0,06	1,98	2,32	6,97		
15	2,08	0,12	0,04	1,92	2,22	5,72		

**Tabela 5.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,22	0,36	0,01	6,19	6,29	0,58		
3	6,02	0,07	0,03	5,92	6,11	1,16		
6	5,60	0,12	0,05	5,48	5,82	2,18		
9	5,29	0,02	0,008	5,27	5,32	0,37		
12	5,09	0,05	0,02	5,02	5,15	0,91		
15	5,14	0,07	0,02	5,03	5,22	1,32		

**Tabela 6.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,20	0,01	0,004	6,19	6,21	0,14		
3	5,53	0,18	0,07	5,05	5,53	3,38		
6	5,22	0,10	0,04	5,06	5,33	2,01		
9	4,83	0,05	0,02	4,76	4,90	1,14		
12	4,66	0,15	0,06	4,43	4,84	3,30		
15	4,51	0,15	0,06	4,32	4,71	3,23		

**Tabela 7.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,19	0,01	0,006	6,18	6,22	0,24		
3	4,97	0,15	0,06	4,75	5,11	3,04		
6	4,74	0,12	0,05	4,62	4,9	2,55		
9	4,60	0,14	0,05	4,45	4,78	2,97		
12	4,16	0,07	0,03	4,03	4,23	1,77		
15	4,23	0,05	0,02	4,19	4,33	1,20		

**Tabela 8.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,17	0,14	0,006	6,15	6,19	0,22		
3	3,80	0,23	0,09	3,34	3,93	5,98		
6	3,25	0,06	0,02	3,17	3,31	1,88		
9	2,78	0,27	0,11	2,47	3,21	9,80		
12	2,39	0,19	0,08	2,09	2,66	8,07		
15	2,32	0,21	0,09	2,09	2,65	9,40		

**Tabela 9.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{min}$	$X_{max}$	
0	6,40	0,02	0,01	6,37	6,43	0,39
3	5,87	0,09	0,04	5,76	6,01	1,70
6	5,47	0,08	0,03	5,37	5,57	1,57
9	5,29	0,02	0,007	5,28	5,32	0,33
12	4,98	0,12	0,05	4,82	5,11	2,49
15	4,92	0,14	0,06	4,72	5,09	2,79

**Tabela 10.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{min}$	$X_{max}$	
0	6,35	0,02	0,009	6,32	6,39	0,38
3	4,81	0,18	0,07	4,58	5,04	3,82
6	4,42	0,04	0,02	4,36	4,47	0,95
9	4,07	0,09	0,04	3,98	4,20	2,27
12	4,00	0,12	0,05	3,81	4,13	3,01
15	4,02	0,03	0,01	3,97	4,06	0,87

**Tabela 11.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,30	0,03	0,01	6,28	6,36	0,48		
3	4,57	0,04	0,02	4,52	4,62	0,90		
6	4,19	0,05	0,02	4,12	4,24	1,20		
9	3,69	0,18	0,07	3,43	3,92	4,91		
12	3,24	0,26	0,11	2,95	3,65	8,17		
15	3,22	0,28	0,11	2,90	3,59	8,73		

**Tabela 12.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,27	0,02	0,007	6,24	6,29	0,27		
3	3,56	0,02	0,01	3,53	3,60	0,70		
6	3,19	0,12	0,05	3,04	3,36	4,17		
9	2,55	0,13	0,05	2,39	2,74	4,97		
12	<1	/	/	/	/	/		
15	<1	/	/	/	/	/		

**Tabela 13.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,40	0,03	0,01	6,36	6,43	0,49		
3	6,14	0,09	0,04	5,97	6,23	1,62		
6	5,67	0,09	0,04	5,56	5,79	1,72		
9	5,37	0,07	0,03	5,29	5,49	1,32		
12	5,24	0,04	0,02	5,18	5,29	0,77		
15	5,22	0,06	0,03	5,14	5,32	1,25		

**Tabela 14.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,35	0,02	0,008	6,38	6,35	0,31		
3	5,29	0,13	0,05	5,17	5,47	2,44		
6	4,67	0,12	0,05	4,55	4,87	2,61		
9	4,31	0,17	0,07	4,08	4,55	4,01		
12	4,26	0,13	0,05	4,13	4,44	3,05		
15	4,26	0,05	0,02	4,20	4,34	1,26		

**Tabela 15.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,31	0,03	0,06	6,27	6,36	0,56		
3	4,84	0,06	0,02	4,76	4,92	1,25		
6	4,30	0,02	0,008	4,28	4,34	0,48		
9	3,83	0,16	0,06	3,67	4,05	4,11		
12	3,61	0,14	0,06	3,41	3,74	3,95		
15	3,55	0,13	0,05	3,39	3,71	3,57		

**Tabela 16.** Prosečan broj bakterija (log cfu/g) *Salmonella* spp. u eksperimentalno kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,26	0,02	0,008	6,23	6,29	0,35		
3	3,69	0,16	0,06	3,48	3,88	4,28		
6	3,32	0,15	0,06	3,07	3,50	4,64		
9	2,85	0,12	0,05	2,67	3,01	4,39		
12	2,05	0,04	0,02	2,00	2,11	2,24		
15	<1	/	/	/	/	/		

## PRILOG D

Promene prosečnog broja enterobakterija tokom perioda skladištenja

**Tabela 1.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,02	0,04	0,01	4,97	5,06	0,70		
3	4,92	0,19	0,08	4,65	5,12	3,87		
6	5,00	0,22	0,09	4,65	5,22	4,50		
9	5,27	0,17	0,07	5,01	5,42	3,20		
12	5,21	0,07	0,03	5,11	5,30	1,41		
15	5,62	0,17	0,07	5,42	5,84	3,09		

**Tabela 2.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,63	0,05	0,02	4,57	4,72	1,13		
3	4,46	0,07	0,03	4,38	4,55	1,58		
6	4,46	0,06	0,02	4,38	4,52	1,31		
9	4,47	0,09	0,04	4,32	4,55	1,93		
12	4,89	0,13	0,05	4,69	5,02	2,59		
15	4,97	0,10	0,04	4,84	5,10	2,11		

**Tabela 3.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,57	0,03	0,01	4,52	4,62	0,73		
3	4,25	0,06	0,02	4,20	4,36	1,39		
6	4,32	0,07	0,03	4,24	4,41	1,66		
9	4,35	0,21	0,09	4,00	4,56	4,87		
12	4,71	0,18	0,07	4,36	4,86	3,86		
15	4,80	0,31	0,12	4,31	5,17	6,37		

**Tabela 4.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,23	0,03	0,01	4,17	4,27	0,82		
3	3,93	0,11	0,05	3,80	4,08	2,83		
6	4,12	0,03	0,01	4,08	4,15	0,67		
9	4,26	0,05	0,02	4,19	4,32	1,17		
12	4,19	0,05	0,02	4,12	4,25	1,16		
15	4,11	0,06	0,02	4,01	4,18	1,43		

**Tabela 5.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{min}$	$X_{max}$	
0	5,02	0,09	0,03	4,89	5,14	1,70
3	5,35	0,10	0,04	5,21	5,46	1,83
6	5,39	0,04	0,02	5,33	5,45	0,77
9	5,33	0,14	0,06	5,19	5,53	2,58
12	5,27	0,05	0,02	5,22	5,34	0,90
15	5,83	0,21	0,09	5,53	6,05	3,63

**Tabela 6.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{min}$	$X_{max}$	
0	4,61	0,06	0,02	4,52	4,70	1,31
3	4,95	0,03	0,01	4,90	4,99	0,61
6	4,93	0,09	0,03	4,83	5,05	1,74
9	5,05	0,13	0,05	4,94	5,23	2,50
12	5,27	0,03	0,01	5,24	5,31	0,56
15	5,13	0,23	0,10	4,89	5,43	4,54

**Tabela 7.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,55	0,03	0,01	4,51	4,58	0,63		
3	4,40	0,02	0,01	4,37	4,42	0,47		
6	4,52	0,14	0,06	4,32	4,68	3,13		
9	4,97	0,13	0,05	4,82	5,17	2,60		
12	4,88	0,29	0,12	4,54	5,25	5,99		
15	5,07	0,15	0,06	4,90	5,26	2,92		

**Tabela 8.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,21	0,02	0,01	4,18	4,25	0,56		
3	3,95	0,03	0,01	3,90	3,99	0,84		
6	4,15	0,09	0,04	4,06	4,29	2,15		
9	4,29	0,16	0,07	4,09	4,45	3,74		
12	4,29	0,16	0,07	4,09	4,45	3,74		
15	4,47	0,07	0,03	4,38	4,54	1,50		

**Tabela 9.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,30	0,03	0,01	6,26	6,35	0,50		
3	5,99	0,12	0,05	5,88	6,17	2,04		
6	6,18	0,09	0,04	6,05	6,29	1,53		
9	6,18	0,14	0,06	6,00	6,30	2,21		
12	6,37	0,11	0,05	6,26	6,54	1,75		
15	6,81	0,13	0,05	6,64	6,98	1,87		

**Tabela 10.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,19	0,01	0,01	6,17	6,21	0,24		
3	5,86	0,09	0,04	5,76	6,00	1,51		
6	5,88	0,04	0,02	5,81	5,92	0,74		
9	5,96	0,14	0,06	5,76	6,12	2,30		
12	6,21	0,14	0,06	6,03	6,38	2,25		
15	6,35	0,10	0,04	6,19	6,48	1,65		

**Tabela 11.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,14	0,03	0,01	6,08	6,16	0,50		
3	5,80	0,10	0,04	5,65	5,94	1,74		
6	5,62	0,07	0,03	5,55	5,69	1,24		
9	5,85	0,11	0,05	5,71	6,02	1,95		
12	6,19	0,06	0,03	6,12	6,29	1,01		
15	6,26	0,05	0,02	6,20	6,32	0,82		

**Tabela 12.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,07	0,06	0,03	6,00	6,18	1,04		
3	5,20	0,05	0,02	5,13	5,26	1,06		
6	5,41	0,07	0,03	5,32	5,49	1,36		
9	5,47	0,16	0,07	5,29	5,72	2,98		
12	5,77	0,17	0,07	5,61	6,08	2,88		
15	5,89	0,01	0,01	5,87	5,91	0,25		

**Tabela 13.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,31	0,03	0,01	6,28	6,37	0,52		
3	6,25	0,07	0,03	6,16	6,35	1,18		
6	6,38	0,09	0,04	6,28	6,49	1,40		
9	6,24	0,09	0,04	6,08	6,32	1,45		
12	6,63	0,34	0,14	6,17	6,99	5,13		
15	6,94	0,15	0,06	6,78	7,13	2,18		

**Tabela 14.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,19	0,02	0,01	6,16	6,21	0,30		
3	6,14	0,18	0,07	5,96	6,32	2,87		
6	6,11	0,06	0,02	6,01	6,18	0,97		
9	5,96	0,06	0,02	5,88	6,01	0,97		
12	6,19	0,02	0,01	6,15	6,21	0,33		
15	6,49	0,02	0,01	6,46	6,52	0,33		

**Tabela 15.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,12	0,03	0,01	6,08	6,16	0,53		
3	5,92	0,04	0,01	5,87	5,96	0,59		
6	5,95	0,03	0,01	5,92	6,00	0,51		
9	5,88	0,03	0,01	5,82	5,91	0,56		
12	5,95	0,07	0,03	5,89	6,05	1,15		
15	6,27	0,05	0,02	6,20	6,33	0,81		

**Tabela 16.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,05	0,05	0,02	5,99	6,11	0,79		
3	5,45	0,02	0,01	5,43	5,47	0,30		
6	5,38	0,11	0,05	5,27	5,58	2,13		
9	5,66	0,12	0,05	5,43	5,78	2,20		
12	5,89	0,04	0,01	5,85	5,94	0,60		
15	6,04	0,09	0,04	5,96	6,18	1,55		

**Tabela 17.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	3,97	0,05	0,02	3,90	4,03	1,32		
3	4,06	0,07	0,03	3,97	4,16	1,71		
6	4,17	0,08	0,03	4,00	4,23	2,03		
9	4,33	0,04	0,02	4,29	4,39	0,86		
12	4,46	0,12	0,05	4,35	4,67	2,66		
15	4,65	0,09	0,04	4,52	4,77	1,88		

**Tabela 18.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	3,91	0,05	0,02	3,84	3,97	1,15		
3	3,95	0,06	0,03	3,86	4,04	1,58		
6	4,08	0,02	0,01	4,05	4,11	0,53		
9	4,18	0,03	0,01	4,14	4,22	0,65		
12	4,21	0,05	0,02	4,16	4,29	1,26		
15	4,27	0,04	0,02	4,20	4,31	0,92		

**Tabela 19.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	3,69	0,02	0,01	3,66	3,72	0,63		
3	4,76	0,12	0,05	4,56	4,89	2,47		
6	3,85	0,11	0,04	3,72	3,98	2,78		
9	3,97	0,07	0,03	3,89	4,07	1,84		
12	4,04	0,08	0,03	3,94	4,15	2,05		
15	4,04	0,04	0,02	3,98	4,09	1,08		

**Tabela 20.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	3,63	0,02	0,01	3,61	3,65	0,52		
3	3,49	0,08	0,03	3,39	3,59	2,27		
6	3,48	0,04	0,02	3,42	3,52	1,09		
9	3,57	0,17	0,07	3,34	3,78	4,64		
12	3,55	0,08	0,03	3,46	3,67	2,15		
15	3,50	0,04	0,02	3,45	3,57	1,25		

**Tabela 21.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	3,97	0,05	0,02	3,92	4,05	1,31		
3	4,18	0,12	0,05	3,99	4,32	2,93		
6	4,47	0,14	0,06	4,29	4,65	3,20		
9	5,04	0,09	0,04	4,97	5,21	1,76		
12	4,79	0,11	0,04	4,68	4,93	2,29		
15	4,84	0,08	0,03	4,75	4,94	1,66		

**Tabela 22.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	3,91	0,06	0,03	3,81	4,01	1,65		
3	4,03	0,11	0,04	3,87	4,13	2,64		
6	4,17	0,04	0,02	4,12	4,23	1,04		
9	4,31	0,09	0,04	4,21	4,42	2,04		
12	4,50	0,07	0,03	4,42	4,59	1,66		
15	4,40	0,09	0,03	4,31	4,51	1,95		

**Tabela 23.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	3,69	0,03	0,01	3,65	3,73	0,82		
3	3,86	0,10	0,04	3,69	3,95	2,57		
6	4,03	0,03	0,01	3,99	4,06	0,80		
9	4,23	0,11	0,05	4,03	4,34	2,69		
12	4,19	0,18	0,07	3,95	4,42	4,32		
15	4,23	0,07	0,03	4,15	4,32	1,65		

**Tabela 24.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	3,63	0,02	0,01	3,59	3,66	0,68		
3	3,57	0,11	0,05	3,45	3,76	3,12		
6	3,64	0,05	0,02	3,57	3,69	1,41		
9	3,67	0,12	0,05	3,54	3,89	3,40		
12	3,85	0,03	0,01	3,81	3,89	0,89		
15	3,78	0,13	0,05	3,66	3,96	3,44		

**Tabela 25.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,25	0,43	0,17	6,52	5,39	6,81		
3	6,15	0,10	0,04	6,27	6,02	1,56		
6	6,32	0,11	0,04	6,45	6,19	1,72		
9	6,32	0,09	0,04	6,43	6,20	1,42		
12	6,49	0,04	0,02	6,56	6,44	0,69		
15	6,89	0,13	0,05	7,00	6,64	1,88		

**Tabela 26.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,27	0,07	0,03	6,19	6,35	1,04		
3	5,92	0,08	0,03	5,83	6,03	1,36		
6	5,88	0,04	0,02	5,81	5,92	0,74		
9	5,71	0,20	0,08	5,48	5,99	3,56		
12	5,51	0,05	0,02	6,32	6,46	0,84		
15	6,20	0,04	0,01	6,15	6,24	0,59		

**Tabela 27.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,71	0,02	0,01	5,68	5,74	0,38		
3	5,47	0,17	0,07	5,24	5,67	3,16		
6	5,61	0,06	0,02	5,55	5,69	1,06		
9	5,76	0,24	0,10	5,42	6,02	4,15		
12	5,95	0,07	0,03	5,87	6,06	1,21		
15	5,84	0,10	0,04	5,72	5,95	1,74		

**Tabela 28.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,39	0,02	0,01	5,37	5,42	0,35		
3	4,75	0,07	0,03	4,66	4,86	1,50		
6	5,07	0,05	0,02	5,00	5,14	0,96		
9	4,93	0,10	0,04	4,81	5,06	1,96		
12	5,01	0,10	0,04	4,86	5,12	1,91		
15	5,44	0,04	0,02	5,39	5,49	0,75		

**Tabela 29.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,25	0,41	0,17	5,42	6,52	6,58		
3	6,35	0,08	0,03	6,24	6,45	1,26		
6	6,55	0,27	0,11	6,29	6,98	4,06		
9	6,51	0,07	0,03	6,41	6,59	1,11		
12	6,58	0,13	0,05	6,42	6,73	2,05		
15	7,18	0,18	0,08	6,88	7,34	2,57		

**Tabela 30.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,26	0,43	0,18	5,39	6,55	6,87		
3	6,06	0,16	0,07	5,87	6,27	2,70		
6	5,94	0,05	0,02	5,88	6,00	0,86		
9	6,09	0,04	0,02	6,03	6,13	0,61		
12	5,70	0,53	0,22	5,22	6,51	9,27		
15	6,36	0,04	0,02	6,30	6,42	0,68		

**Tabela 31.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,71	0,04	0,02	5,65	5,78	0,78		
3	5,97	0,04	0,02	5,92	6,02	0,72		
6	5,95	0,06	0,03	5,87	6,03	1,07		
9	6,54	0,52	0,21	5,68	6,94	7,97		
12	6,01	0,14	0,06	5,89	6,22	2,29		
15	6,05	0,07	0,03	5,95	6,13	1,19		

**Tabela 32.** Prosečan broj enterobakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,40	0,04	0,02	5,34	5,45	0,78		
3	4,91	0,08	0,03	4,80	4,99	1,53		
6	5,03	0,12	0,05	4,89	5,18	2,48		
9	5,13	0,13	0,05	4,99	5,30	2,62		
12	5,17	0,07	0,03	5,07	5,24	1,36		
15	5,51	0,10	0,04	5,40	5,68	1,79		

## PRILOG E

Promene prosečnog broja aerobnih mezofilnih bakterija tokom perioda skladištenja

**Tabela 1.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{min}$	$X_{max}$	
0	5,21	0,01	0,006	5,19	5,23	0,27
3	5,77	0,21	0,08	5,54	6,03	3,61
6	6,11	0,08	0,03	5,99	6,19	1,40
9	6,56	0,05	0,02	6,47	6,62	0,75
12	6,67	0,16	0,06	6,47	6,91	2,39
15	7,09	0,11	0,04	6,91	7,23	1,52

**Tabela 2.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	$I_V$		$C_{V\%}$
				$X_{min}$	$X_{max}$	
0	5,19	0,02	0,008	5,16	5,21	0,40
3	5,62	0,09	0,04	5,48	5,75	1,73
6	5,86	0,13	0,05	5,67	6,02	2,19
9	6,18	0,12	0,05	6,07	6,38	2,15
12	6,39	0,03	0,01	6,35	6,44	0,54
15	6,57	0,09	0,04	6,46	6,69	1,50

**Tabela 3.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,18	0,03	0,01	5,15	5,23	0,55		
3	4,69	0,26	0,10	4,46	5,09	5,48		
6	5,49	0,17	0,07	5,25	5,72	3,16		
9	5,61	0,19	0,08	5,37	5,84	3,42		
12	6,11	0,08	0,03	6,02	6,23	1,35		
15	6,21	0,07	0,03	6,11	6,31	1,23		

**Tabela 4.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,17	0,03	0,01	5,13	5,22	0,59		
3	4,08	0,18	0,07	3,77	4,25	4,52		
6	4,92	0,11	0,04	4,83	5,12	2,22		
9	5,31	0,04	0,01	5,26	5,37	0,73		
12	5,69	0,13	0,05	5,55	5,87	2,29		
15	6,02	0,07	0,03	5,94	6,13	1,12		

**Tabela 5.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,21	0,01	0,006	5,19	5,23	0,27		
3	6,19	0,07	0,03	6,11	6,29	1,20		
6	6,57	0,19	0,08	6,33	6,87	2,84		
9	7,16	0,10	0,04	7,06	7,33	1,41		
12	7,32	0,09	0,04	7,23	7,49	1,25		
15	8,03	0,11	0,04	7,88	8,21	1,37		

**Tabela 6.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,20	0,009	0,004	5,19	5,21	0,19		
3	5,69	0,14	0,06	5,53	5,88	2,57		
6	6,07	0,01	0,006	6,06	6,09	0,23		
9	6,32	0,09	0,04	6,21	6,43	1,38		
12	6,63	0,11	0,04	6,49	6,77	1,67		
15	6,84	0,08	0,03	6,76	6,99	1,19		

**Tabela 7.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,18	0,02	0,008	5,16	5,22	0,40		
3	5,28	0,04	0,01	5,23	5,32	0,67		
6	5,77	0,15	0,06	5,59	5,94	2,53		
9	6,13	0,03	0,01	6,09	6,17	0,50		
12	6,31	0,05	0,02	6,23	6,38	0,88		
15	6,46	0,14	0,06	6,29	6,66	2,18		

**Tabela 8.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,17	0,02	0,009	5,13	5,19	0,45		
3	4,32	0,09	0,04	4,19	4,45	2,24		
6	5,19	0,06	0,02	5,12	5,27	1,21		
9	5,51	0,05	0,02	5,44	5,57	0,85		
12	5,74	0,37	0,15	5,02	6,03	6,41		
15	6,19	0,09	0,04	6,08	6,34	1,46		

**Tabela 9.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,82	0,05	0,02	6,76	6,89	0,70		
3	7,02	0,04	0,02	6,97	7,08	0,62		
6	7,38	0,04	0,02	7,33	7,43	0,54		
9	7,83	0,12	0,05	7,69	8,00	1,51		
12	8,22	0,12	0,05	8,06	8,36	1,44		
15	8,49	0,18	0,07	8,21	8,67	2,08		

**Tabela 10.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,55	0,41	0,17	5,71	6,79	6,32		
3	6,64	0,30	0,12	6,29	6,92	4,44		
6	7,08	0,08	0,03	6,99	7,17	1,07		
9	7,33	0,08	0,03	7,25	7,45	1,05		
12	7,48	0,08	0,03	7,36	7,57	1,06		
15	7,86	0,12	0,05	7,63	7,95	1,52		

**Tabela 11.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,64	0,06	0,03	6,55	6,71	0,96		
3	6,45	0,09	0,04	6,31	6,57	1,46		
6	6,96	0,04	0,02	6,89	7,00	0,59		
9	7,24	0,05	0,02	7,19	7,32	0,64		
12	7,36	0,07	0,03	7,28	7,48	0,97		
15	7,26	0,07	0,03	7,13	7,32	0,96		

**Tabela 12.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,57	0,07	0,03	6,49	6,66	1,03		
3	6,26	0,06	0,02	6,20	6,35	0,95		
6	6,71	0,21	0,08	6,32	6,88	3,10		
9	7,21	0,34	0,14	7,00	7,90	4,71		
12	7,05	0,12	0,05	6,92	7,19	1,70		
15	6,89	0,04	0,02	6,82	6,94	0,65		

**Tabela 13.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,82	0,05	0,02	6,76	6,89	0,78		
3	7,36	0,06	0,02	7,28	7,42	0,82		
6	7,51	0,05	0,02	7,45	7,56	0,64		
9	8,00	0,06	0,02	7,93	8,08	0,75		
12	8,64	0,20	0,08	8,35	8,83	2,27		
15	9,00	0,03	0,01	8,97	9,04	0,29		

**Tabela 14.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,56	0,42	0,17	5,71	6,79	6,37		
3	6,99	0,06	0,02	6,90	7,06	0,82		
6	7,20	0,09	0,04	7,07	7,31	1,24		
9	7,37	0,06	0,02	7,30	7,44	0,78		
12	7,69	0,03	0,01	7,65	7,72	0,36		
15	8,01	0,02	0,01	7,98	8,04	0,30		

**Tabela 15.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,64	0,06	0,02	6,55	6,69	0,87		
3	6,53	0,13	0,05	6,36	6,69	2,00		
6	7,10	0,15	0,06	6,94	7,27	2,18		
9	7,29	0,04	0,01	7,23	7,33	0,50		
12	7,33	0,08	0,03	7,23	7,42	1,10		
15	7,64	0,15	0,06	7,37	7,76	1,95		

**Tabela 16.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,57	0,09	0,04	6,40	6,65	1,38		
3	6,33	0,09	0,03	6,21	6,41	1,35		
6	6,68	0,21	0,09	6,41	6,94	3,16		
9	7,18	0,09	0,04	7,05	7,27	1,26		
12	7,21	0,03	0,01	7,16	7,25	0,45		
15	6,88	0,11	0,05	6,78	7,08	1,65		

**Tabela 17.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,29	0,02	0,006	4,27	4,31	0,37		
3	5,20	0,02	0,009	5,17	5,23	0,46		
6	5,26	0,01	0,06	5,03	5,42	2,80		
9	5,49	0,09	0,04	5,36	5,60	1,71		
12	5,93	0,16	0,07	5,69	6,11	2,79		
15	6,95	0,21	0,09	6,75	7,29	3,11		

**Tabela 18.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,29	0,03	0,01	4,26	4,33	0,60		
3	4,71	0,10	0,04	4,59	4,83	2,14		
6	5,11	0,05	0,02	5,02	5,17	1,07		
9	5,18	0,09	0,04	5,04	5,29	1,88		
12	5,45	0,12	0,05	5,32	5,59	2,14		
15	5,66	0,05	0,02	5,59	5,71	0,92		

**Tabela 19.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,27	0,01	0,006	4,25	4,29	0,34		
3	4,43	0,09	0,04	4,32	4,53	1,99		
6	4,80	0,33	0,13	4,20	5,15	6,88		
9	4,71	0,05	0,02	4,66	4,77	0,99		
12	5,07	0,09	0,04	4,96	5,18	1,74		
15	5,34	0,07	0,03	5,24	5,40	1,26		

**Tabela 20.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,23	0,03	0,01	4,20	4,28	0,78		
3	4,17	0,03	0,01	4,13	4,21	0,77		
6	4,29	0,11	0,05	4,14	4,47	2,68		
9	4,52	0,02	0,007	4,50	4,55	0,39		
12	4,68	0,04	0,02	4,62	4,73	0,84		
15	4,78	0,05	0,02	4,71	4,84	1,10		

**Tabela 21.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,29	0,02	0,01	4,26	4,32	0,58		
3	5,29	0,06	0,03	5,21	5,38	1,25		
6	5,62	0,14	0,06	5,39	5,73	2,49		
9	6,06	0,18	0,07	5,85	6,29	3,01		
12	6,97	0,28	0,11	6,46	7,20	4,01		
15	7,37	0,13	0,05	7,16	7,56	1,77		

**Tabela 22.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,29	0,02	0,009	4,25	4,31	0,56		
3	5,12	0,03	0,01	5,07	5,16	0,67		
6	5,33	0,15	0,06	5,18	5,56	2,29		
9	5,38	0,08	0,03	5,26	5,48	1,56		
12	5,71	0,14	0,06	5,53	5,88	2,42		
15	6,19	0,11	0,04	5,98	6,27	1,73		

**Tabela 23.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,27	0,02	0,007	4,25	4,29	0,43		
3	4,88	0,07	0,03	4,79	4,98	1,55		
6	5,10	0,02	0,10	5,06	5,13	0,50		
9	5,14	0,03	0,01	5,11	5,18	0,55		
12	5,26	0,05	0,02	5,19	5,32	0,97		
15	5,61	0,10	0,04	5,48	5,73	1,89		

**Tabela 24.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,24	0,03	0,01	4,20	4,28	0,76		
3	4,31	0,15	0,06	4,12	4,49	3,46		
6	4,89	0,02	0,008	4,86	4,92	0,44		
9	5,01	0,04	0,02	4,97	5,06	0,76		
12	4,95	0,09	0,04	4,83	5,09	1,93		
15	5,39	0,16	0,06	5,16	5,56	2,90		

**Tabela 25.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	7,00	0,06	0,02	6,92	7,08	0,85		
3	7,16	0,07	0,03	7,04	7,22	0,96		
6	7,39	0,06	0,03	7,29	7,48	0,87		
9	7,90	0,13	0,05	7,76	8,06	1,65		
12	8,44	0,07	0,03	8,36	8,56	0,88		
15	8,79	0,10	0,04	8,65	8,94	1,13		

**Tabela 26.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,92	0,03	0,01	6,87	6,95	0,46		
3	6,30	0,02	0,01	6,26	6,32	0,36		
6	7,24	0,03	0,01	7,19	7,29	0,47		
9	6,86	0,42	0,17	6,41	7,47	6,05		
12	7,30	0,05	0,02	7,24	7,35	0,63		
15	6,98	0,06	0,02	6,88	7,04	0,80		

**Tabela 27.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,77	0,04	0,02	6,71	6,81	0,66		
3	6,31	0,02	0,01	6,28	6,34	0,33		
6	6,17	0,03	0,01	6,12	6,21	0,51		
9	6,70	0,30	0,12	6,33	7,02	4,44		
12	6,82	0,37	0,15	6,23	7,24	5,41		
15	6,34	0,07	0,03	6,27	6,45	1,12		

**Tabela 28.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,80	0,01	0,01	6,78	6,82	0,21		
3	6,16	0,06	0,03	6,07	6,23	1,03		
6	5,95	0,05	0,02	5,89	6,00	0,80		
9	6,50	0,27	0,11	6,22	6,84	4,22		
12	5,98	0,05	0,02	5,89	6,04	0,84		
15	6,20	0,05	0,02	6,14	6,26	0,74		

**Tabela 29.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	7,00	0,07	0,03	6,92	7,08	0,93		
3	7,49	0,08	0,03	7,39	7,59	1,06		
6	7,56	0,09	0,04	7,47	7,69	1,14		
9	8,45	0,23	0,10	8,03	8,63	2,76		
12	8,83	0,27	0,11	8,35	9,06	3,06		
15	9,21	0,11	0,05	9,06	9,33	1,20		

**Tabela 30.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,93	0,05	0,02	6,86	6,99	0,70		
3	6,52	0,05	0,02	6,47	6,59	0,74		
6	6,71	0,48	0,20	6,37	7,68	7,22		
9	7,14	0,31	0,13	6,59	7,41	4,36		
12	7,36	0,08	0,03	7,25	7,45	1,09		
15	7,26	0,04	0,02	7,19	7,31	0,57		

**Tabela 31.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,82	0,04	0,02	6,78	6,89	0,55		
3	6,38	0,04	0,02	6,32	6,42	0,60		
6	6,56	0,30	0,12	6,23	7,09	4,61		
9	6,88	0,12	0,05	6,72	6,98	1,68		
12	6,50	0,29	0,12	6,23	6,89	4,51		
15	6,49	0,37	0,15	6,10	6,98	5,67		

**Tabela 32.** Prosečan broj aerobnih mezofilnih bakterija (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,77	0,04	0,02	6,71	6,81	0,66		
3	6,18	0,10	0,04	6,03	6,29	1,58		
6	6,11	0,10	0,04	5,97	6,19	1,66		
9	6,60	0,31	0,13	6,16	6,89	4,73		
12	6,15	0,08	0,03	6,03	6,22	1,27		
15	6,21	0,03	0,01	6,17	6,25	0,44		

## PRILOG F

Promene prosečnog broja bakterija mlečne kiseline tokom perioda skladištenja

**Tabela 1.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,39	0,01	0,006	4,38	4,42	0,33		
3	5,19	0,13	0,05	4,98	5,35	2,51		
6	6,03	0,02	0,01	6,00	6,06	0,38		
9	6,13	0,04	0,02	6,08	6,17	0,63		
12	6,22	0,03	0,01	6,18	6,26	0,55		
15	6,48	0,02	0,01	6,46	6,52	0,36		

**Tabela 2.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,24	0,02	0,006	4,22	4,26	0,39		
3	4,19	0,01	0,006	4,17	4,21	0,35		
6	5,00	0,02	0,01	4,97	5,03	0,50		
9	5,26	0,05	0,02	5,20	5,33	1,04		
12	5,76	0,07	0,03	5,68	5,84	1,20		
15	6,15	0,07	0,03	6,06	6,24	1,20		

**Tabela 3.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>		$C_{V\%}$
				$X_{min}$	$X_{max}$	
0	4,18	0,01	0,005	4,17	4,21	
3	3,86	0,17	0,07	3,65	4,02	4,44
6	4,54	0,20	0,08	4,32	4,79	4,50
9	5,12	0,07	0,03	5,03	5,18	1,32
12	5,33	0,09	0,04	5,21	5,47	1,85
15	5,78	0,12	0,05	5,65	5,93	2,09

**Tabela 4.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije				
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>		$C_{V\%}$
				$X_{min}$	$X_{max}$	
0	4,14	0,03	0,01	4,09	4,18	0,83
3	3,38	0,13	0,05	3,23	3,56	3,90
6	4,14	0,04	0,02	4,09	4,19	1,01
9	4,61	0,07	0,03	4,52	4,69	1,46
12	4,97	0,12	0,05	4,83	5,12	2,41
15	4,98	0,08	0,03	4,90	5,11	1,64

**Tabela 5.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,40	0,02	0,008	4,37	4,43	0,46		
3	5,39	0,12	0,05	5,27	5,54	2,17		
6	6,14	0,03	0,01	6,10	6,19	0,55		
9	6,31	0,02	0,01	6,27	6,34	0,39		
12	6,38	0,03	0,01	6,35	6,42	0,44		
15	7,00	0,10	0,04	6,87	7,08	1,41		

**Tabela 6.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,23	0,01	0,006	4,22	4,25	0,33		
3	4,27	0,03	0,01	4,25	4,32	0,62		
6	5,84	0,09	0,04	5,74	5,96	1,61		
9	6,11	0,03	0,01	6,07	6,15	0,54		
12	6,05	0,05	0,02	5,99	6,11	0,79		
15	6,31	0,09	0,04	6,19	6,46	1,57		

**Tabela 7.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,18	0,01	0,006	4,17	4,21	0,33		
3	3,96	0,06	0,03	3,88	4,03	1,68		
6	5,05	0,06	0,02	4,97	5,11	1,18		
9	5,82	0,02	0,01	5,79	5,85	0,40		
12	5,82	0,12	0,05	5,69	5,99	2,12		
15	5,91	0,06	0,02	5,85	5,99	1,03		

**Tabela 8.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,14	0,03	0,01	4,09	4,17	0,86		
3	3,44	0,15	0,06	3,29	3,67	4,39		
6	4,73	0,14	0,06	4,59	4,94	3,01		
9	5,16	0,16	0,07	4,96	5,36	3,23		
12	5,62	0,05	0,02	5,56	5,68	0,86		
15	5,65	0,09	0,04	5,56	5,79	1,67		

**Tabela 9.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,57	0,06	0,03	4,50	4,66	1,35		
3	6,25	0,05	0,02	6,18	6,31	0,86		
6	6,70	0,35	0,14	6,31	7,15	5,15		
9	7,12	0,04	0,02	7,07	7,17	0,57		
12	7,27	0,04	0,01	7,23	7,33	0,50		
15	7,26	0,06	0,02	7,19	7,32	0,76		

**Tabela 10.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,46	0,07	0,03	4,36	4,56	1,49		
3	6,03	0,10	0,04	5,87	6,17	1,63		
6	6,25	0,15	0,06	6,01	6,43	2,42		
9	6,75	0,36	0,15	6,39	7,25	5,34		
12	7,08	0,08	0,03	6,99	7,18	1,13		
15	6,94	0,02	0,01	6,91	6,97	0,31		

**Tabela 11.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,46	0,07	0,03	4,36	4,56	1,49		
3	6,03	0,13	0,05	5,84	6,17	2,21		
6	6,15	0,02	0,01	6,12	6,17	0,32		
9	6,72	0,27	0,11	6,32	7,03	3,98		
12	6,94	0,05	0,02	6,87	6,99	0,74		
15	6,81	0,10	0,04	6,69	6,96	1,51		

**Tabela 12.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,21	0,11	0,05	4,00	4,32	2,70		
3	6,23	0,09	0,04	6,07	6,31	1,47		
6	5,76	0,07	0,03	5,65	5,84	1,27		
9	6,23	0,09	0,04	6,07	6,31	1,47		
12	6,30	0,06	0,03	6,22	6,37	0,99		
15	6,41	0,14	0,06	6,22	6,57	2,20		

**Tabela 13.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,62	0,10	0,04	4,52	4,79	2,14		
3	6,93	0,47	0,19	6,35	7,36	6,76		
6	6,93	0,47	0,19	6,35	7,36	6,76		
9	7,50	0,10	0,04	7,35	7,61	1,29		
12	7,41	0,03	0,01	7,38	7,46	0,38		
15	7,37	0,13	0,05	7,21	7,51	1,72		

**Tabela 14.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,45	0,05	0,02	4,39	4,50	1,11		
3	6,07	0,10	0,04	5,90	6,16	1,63		
6	6,34	0,03	0,01	6,30	6,37	0,43		
9	6,92	0,29	0,12	6,57	7,34	4,12		
12	7,24	0,06	0,02	7,13	7,29	0,80		
15	6,97	0,08	0,03	6,83	7,03	1,10		

**Tabela 15.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,45	0,08	0,03	4,34	4,58	1,74		
3	5,97	0,14	0,06	5,70	6,07	2,39		
6	6,21	0,07	0,03	6,11	6,28	1,20		
9	6,48	0,03	0,01	6,43	6,50	0,44		
12	6,91	0,06	0,02	6,83	6,98	0,87		
15	6,77	0,05	0,02	6,71	6,83	0,70		

**Tabela 16.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,45	0,08	0,03	4,34	4,58	1,74		
3	5,97	0,14	0,06	5,70	6,07	2,39		
6	6,21	0,07	0,03	6,11	6,28	1,20		
9	6,48	0,03	0,01	6,43	6,50	0,44		
12	6,91	0,06	0,02	6,83	6,98	0,87		
15	6,77	0,05	0,02	6,71	6,83	0,70		

**Tabela 17.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,26	0,02	0,006	4,24	4,28	0,38		
3	4,28	0,04	0,01	4,22	4,31	0,85		
6	5,13	0,02	0,008	5,11	5,16	0,38		
9	5,24	0,06	0,02	5,18	5,33	1,08		
12	5,33	0,05	0,02	5,26	5,38	0,88		
15	5,67	0,14	0,06	5,44	5,81	2,50		

**Tabela 18.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,20	0,01	0,005	4,18	4,22	0,32		
3	4,10	0,10	0,04	3,97	4,22	2,54		
6	4,99	0,07	0,03	4,90	5,08	1,31		
9	5,12	0,05	0,02	5,03	5,17	1,02		
12	4,96	0,08	0,03	4,89	5,05	1,52		
15	5,24	0,04	0,02	5,19	5,29	0,71		

**Tabela 19.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,16	0,005	0,002	4,15	4,16	0,13		
3	3,91	0,04	0,02	3,85	3,96	1,13		
6	4,11	0,09	0,04	3,99	4,20	2,27		
9	4,31	0,07	0,03	4,20	4,38	1,59		
12	4,69	0,03	0,01	4,63	4,72	0,67		
15	4,77	0,13	0,05	4,60	4,96	2,63		

**Tabela 20.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,13	0,01	0,005	4,11	4,14	0,31		
3	3,88	0,05	0,02	3,79	3,92	1,26		
6	3,95	0,06	0,02	3,87	4,01	1,48		
9	4,77	0,13	0,05	4,60	4,96	2,63		
12	4,15	0,02	0,007	4,13	4,17	0,39		
15	4,24	0,07	0,03	4,14	4,33	1,69		

**Tabela 21.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,25	0,02	0,006	4,23	4,27	0,38		
3	4,31	0,04	0,01	4,28	4,38	0,82		
6	5,25	0,05	0,02	5,18	5,31	0,91		
9	5,40	0,03	0,01	5,36	5,45	0,65		
12	5,54	0,14	0,06	5,42	5,76	2,58		
15	6,11	0,12	0,05	5,94	6,31	2,02		

**Tabela 22.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,20	0,02	0,01	4,17	4,24	0,59		
3	4,20	0,04	0,02	4,16	4,26	1,01		
6	5,11	0,05	0,02	5,05	5,17	0,95		
9	5,25	0,07	0,03	5,18	5,35	1,35		
12	5,02	0,06	0,03	4,93	5,12	1,24		
15	5,52	0,27	0,11	5,26	6,02	4,80		

**Tabela 23.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,16	0,02	0,007	4,14	4,18	0,39		
3	4,00	0,06	0,03	3,89	4,06	1,56		
6	4,26	0,06	0,02	4,19	4,32	1,31		
9	4,53	0,12	0,05	4,39	4,68	2,75		
12	4,81	0,16	0,06	4,57	5,05	3,29		
15	4,96	0,12	0,05	4,76	5,08	2,48		

**Tabela 24.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,14	0,01	0,006	4,12	4,16	0,33		
3	3,97	0,05	0,02	3,89	4,02	1,33		
6	4,06	0,07	0,03	3,96	4,13	1,68		
9	4,53	0,12	0,05	4,39	4,68	2,75		
12	4,27	0,16	0,07	4,00	4,45	3,83		
15	4,41	0,06	0,03	4,32	4,51	1,40		

**Tabela 25.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,44	0,14	0,06	4,26	4,60	3,10		
3	6,39	0,04	0,01	6,35	6,45	0,57		
6	6,50	0,14	0,06	6,31	6,65	2,22		
9	6,93	0,08	0,03	6,81	7,04	1,16		
12	7,15	0,05	0,02	7,08	7,21	0,66		
15	7,13	0,08	0,03	7,00	7,21	1,14		

**Tabela 26.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,31	0,05	0,02	4,22	4,36	1,18		
3	6,22	0,03	0,01	6,18	6,25	0,45		
6	6,27	0,17	0,07	6,05	6,46	2,71		
9	6,68	0,26	0,11	6,31	6,92	3,90		
12	7,07	0,08	0,03	6,98	7,19	1,09		
15	6,81	0,18	0,08	6,56	7,05	2,70		

**Tabela 27.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,28	0,07	0,03	4,19	4,39	1,67		
3	5,17	0,07	0,03	5,08	5,26	1,39		
6	6,21	0,06	0,03	6,11	6,28	1,01		
9	6,49	0,12	0,05	6,35	6,66	1,78		
12	6,17	0,07	0,03	6,09	6,28	1,09		
15	6,05	0,06	0,03	5,98	6,13	1,06		

**Tabela 28.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,20	0,06	0,03	4,11	4,27	1,53		
3	4,67	0,33	0,13	4,26	5,07	6,97		
6	5,18	0,11	0,04	5,00	5,29	2,12		
9	5,34	0,25	0,10	5,04	5,70	4,76		
12	5,81	0,22	0,09	5,56	6,04	3,72		
15	5,92	0,15	0,06	5,78	6,13	2,54		

**Tabela 29.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,45	0,12	0,05	4,26	4,59	2,61		
3	6,29	0,12	0,05	6,15	6,45	1,97		
6	6,61	0,24	0,10	6,35	6,86	3,56		
9	7,32	0,07	0,03	7,21	7,38	0,93		
12	7,39	0,09	0,04	7,28	7,49	1,19		
15	7,26	0,17	0,07	7,06	7,45	2,31		

**Tabela 30.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,31	0,05	0,02	4,21	4,36	1,23		
3	6,22	0,04	0,02	6,17	6,26	0,63		
6	6,35	0,07	0,03	6,27	6,44	1,17		
9	6,68	0,28	0,11	6,34	7,01	4,18		
12	7,13	0,12	0,05	6,89	7,21	1,70		
15	6,69	0,34	0,14	6,09	7,04	5,11		

**Tabela 31.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,27	0,06	0,02	4,22	4,38	1,37		
3	5,21	0,05	0,02	5,15	5,27	0,93		
6	6,32	0,05	0,02	6,25	6,40	0,87		
9	6,47	0,07	0,03	6,38	6,55	1,04		
12	6,11	0,01	0,01	6,09	6,13	0,23		
15	6,25	0,08	0,03	6,13	6,33	1,24		

**Tabela 32.** Prosečan broj bakterija mlečne kiseline (log cfu/g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	Broj bakterija $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	4,24	0,07	0,03	4,13	4,32	1,59		
3	4,75	0,29	0,12	4,46	5,17	6,11		
6	5,24	0,07	0,03	5,14	5,32	1,38		
9	5,74	0,32	0,13	5,32	6,17	5,55		
12	5,97	0,08	0,03	5,89	6,07	1,32		
15	5,93	0,08	0,03	5,80	6,00	1,30		

## PRILOG G

### Promena pH vrednosti

**Tabela 1.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovano u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,84	0,02	0,01	5,83	5,87	0,27		
3	5,78	0,01	0,00	5,77	5,79	0,15		
6	5,76	0,03	0,01	5,73	5,80	0,48		
9	5,70	0,03	0,01	5,66	5,76	0,61		
12	5,61	0,07	0,03	5,53	5,69	1,25		
15	5,75	0,03	0,01	5,71	5,78	0,45		

**Tabela 2.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa mlevenog mesa upakovano u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,83	0,02	0,01	5,80	5,84	0,27		
3	5,76	0,03	0,01	5,71	5,79	0,50		
6	5,76	0,01	0,00	5,74	5,77	0,18		
9	5,70	0,02	0,01	5,68	5,72	0,29		
12	5,71	0,01	0,01	5,69	5,72	0,24		
15	5,77	0,01	0,01	5,75	5,79	0,26		

**Tabela 3.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,85	0,02	0,01	5,82	5,87	0,28		
3	5,74	0,01	0,005	5,73	5,76	0,18		
6	5,73	0,01	0,005	5,72	5,74	0,16		
9	5,73	0,01	0,01	5,71	5,74	0,24		
12	5,70	0,13	0,05	5,43	5,76	2,31		
15	5,79	0,02	0,01	5,76	5,80	0,26		

**Tabela 4.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,83	0,01	0,005	5,82	5,83	0,09		
3	5,76	0,02	0,01	5,74	5,78	0,28		
6	5,73	0,01	0,005	5,72	5,74	0,14		
9	5,73	0,01	0,005	5,72	5,74	0,17		
12	5,75	0,01	0,005	5,74	5,76	0,17		
15	5,80	0,01	0,01	5,78	5,81	0,22		

**Tabela 5.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,84	0,02	0,01	5,83	5,87	0,30		
3	5,96	0,01	0,005	5,95	5,97	0,13		
6	5,86	0,01	0,005	5,85	5,87	0,15		
9	5,62	0,03	0,01	5,58	5,66	0,57		
12	5,64	0,08	0,03	5,53	5,72	1,44		
15	5,72	0,01	0,005	5,71	5,73	0,17		

**Tabela 6.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,84	0,01	0,01	5,81	5,85	0,24		
3	5,96	0,01	0,005	5,94	5,97	0,18		
6	5,84	0,02	0,01	5,81	5,86	0,33		
9	5,65	0,01	0,005	5,64	5,67	0,21		
12	5,72	0,02	0,01	5,69	5,74	0,33		
15	5,76	0,01	0,005	5,75	5,77	0,14		

**Tabela 7.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,85	0,02	0,01	5,83	5,87	0,26		
3	5,96	0,02	0,01	5,93	5,97	0,28		
6	5,79	0,12	0,05	5,54	5,85	2,15		
9	5,66	0,04	0,02	5,60	5,71	0,78		
12	5,73	0,01	0,00	5,71	5,74	0,18		
15	5,77	0,02	0,01	5,74	5,79	0,40		

**Tabela 8.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,83	0,01	0,00	5,82	5,84	0,13		
3	5,87	0,01	0,00	5,86	5,89	0,18		
6	5,84	0,02	0,01	5,81	5,86	0,36		
9	5,62	0,02	0,01	5,59	5,64	0,37		
12	5,73	0,02	0,01	5,71	5,75	0,28		
15	5,76	0,05	0,02	5,69	5,81	0,79		

**Tabela 9.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovano u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,84	0,01	0,00	5,82	5,85	0,18		
3	5,84	0,03	0,01	5,80	5,89	0,54		
6	5,79	0,03	0,01	5,75	5,83	0,58		
9	5,93	0,02	0,01	5,90	5,95	0,35		
12	5,76	0,05	0,02	5,69	5,83	0,91		
15	5,80	0,02	0,01	5,77	5,82	0,34		

**Tabela 10.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovano u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,82	0,01	0,01	5,80	5,84	0,25		
3	5,86	0,02	0,01	5,83	5,88	0,41		
6	5,83	0,01	0,005	5,81	5,84	0,23		
9	5,78	0,01	0,01	5,76	5,80	0,24		
12	5,77	0,03	0,01	5,74	5,80	0,44		
15	5,75	0,03	0,01	5,71	5,79	0,53		

**Tabela 11.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovano u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,85	0,02	0,01	5,82	5,87	0,32		
3	5,99	0,01	0,01	5,97	6,01	0,24		
6	5,86	0,01	0,01	5,84	5,87	0,23		
9	5,79	0,05	0,02	5,72	5,84	0,89		
12	5,68	0,03	0,01	5,64	5,70	0,46		
15	5,83	0,04	0,02	5,77	5,88	0,76		

**Tabela 12.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovano u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,82	0,01	0,003	5,81	5,83	0,14		
3	5,93	0,09	0,04	5,86	6,07	1,51		
6	5,91	0,01	0,004	5,90	5,93	0,19		
9	5,84	0,08	0,03	5,73	5,90	1,33		
12	5,72	0,03	0,01	5,69	5,76	0,49		
15	5,82	0,04	0,02	5,76	5,88	0,72		

**Tabela 13.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,84	0,01	0,01	5,82	5,86	0,24		
3	5,80	0,02	0,01	5,77	5,82	0,32		
6	5,72	0,01	0,01	5,70	5,74	0,26		
9	5,67	0,05	0,02	5,61	5,73	0,90		
12	5,64	0,03	0,01	5,60	5,67	0,51		
15	5,67	0,01	0,01	5,65	5,69	0,26		

**Tabela 14.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,82	0,02	0,01	5,80	5,84	0,28		
3	5,86	0,03	0,01	5,82	5,90	0,57		
6	5,82	0,01	0,005	5,80	5,83	0,20		
9	5,77	0,03	0,01	5,73	5,80	0,52		
12	5,63	0,02	0,01	5,61	5,65	0,29		
15	5,75	0,02	0,01	5,73	5,78	0,31		

**Tabela 15.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanih u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,85	0,02	0,01	5,82	5,87	0,32		
3	5,86	0,03	0,01	5,82	5,90	0,52		
6	5,85	0,02	0,01	5,83	5,89	0,38		
9	5,73	0,03	0,01	5,69	5,77	0,57		
12	5,63	0,02	0,01	5,61	5,65	0,31		
15	5,76	0,04	0,01	5,70	5,79	0,67		

**Tabela 16.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanih u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,84	0,01	0,01	5,82	5,86	0,25		
3	5,93	0,08	0,03	5,84	6,01	1,29		
6	5,92	0,03	0,01	5,87	5,95	0,49		
9	5,89	0,07	0,03	5,78	5,96	1,17		
12	5,66	0,03	0,01	5,62	5,69	0,50		
15	5,83	0,04	0,02	5,75	5,87	0,69		

**Tabela 17.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,06	0,02	0,01	6,03	6,08	0,32		
3	5,94	0,03	0,01	5,92	5,98	0,43		
6	5,97	0,02	0,01	5,94	5,99	0,33		
9	5,96	0,03	0,01	5,92	6,01	0,54		
12	5,83	0,01	0,01	5,81	5,84	0,24		
15	5,78	0,06	0,02	5,71	5,85	0,99		

**Tabela 18.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,02	0,01	0,01	6,00	6,03	0,23		
3	5,90	0,03	0,01	5,86	5,94	0,56		
6	5,83	0,12	0,05	5,59	5,89	2,01		
9	5,88	0,03	0,01	5,85	5,92	0,52		
12	5,85	0,01	0,01	5,83	5,87	0,23		
15	5,82	0,04	0,02	5,77	5,87	0,66		

**Tabela 19.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,03	0,01	0,01	6,01	6,04	0,19		
3	5,88	0,07	0,03	5,80	5,96	1,12		
6	5,95	0,01	0,01	5,93	5,97	0,25		
9	5,94	0,04	0,02	5,89	5,99	0,70		
12	5,84	0,01	0,01	5,82	5,86	0,25		
15	5,90	0,02	0,01	5,86	5,93	0,40		

**Tabela 20.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,02	0,02	0,01	5,99	6,05	0,39		
3	5,85	0,05	0,02	5,79	5,92	0,89		
6	5,86	0,08	0,03	5,77	5,99	1,38		
9	5,95	0,03	0,01	5,91	5,99	0,54		
12	5,95	0,01	0,00	5,94	5,97	0,20		
15	5,93	0,01	0,00	5,92	5,95	0,20		

**Tabela 21.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,07	0,01	0,01	6,05	6,08	0,23		
3	6,01	0,02	0,01	5,99	6,04	0,31		
6	6,03	0,33	0,13	5,60	6,62	5,44		
9	5,92	0,03	0,01	5,89	5,97	0,54		
12	5,71	0,02	0,01	5,69	5,74	0,33		
15	5,76	0,05	0,02	5,69	5,82	0,93		

**Tabela 22.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,02	0,01	0,01	6,00	6,03	0,23		
3	5,95	0,01	0,005	5,93	5,96	0,20		
6	5,87	0,01	0,005	5,85	5,88	0,21		
9	5,86	0,03	0,01	5,83	5,90	0,51		
12	5,82	0,01	0,01	5,80	5,84	0,23		
15	5,78	0,01	0,00	5,77	5,79	0,13		

**Tabela 23.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,03	0,01	0,005	6,01	6,04	0,18		
3	5,93	0,04	0,02	5,87	5,98	0,68		
6	5,93	0,05	0,02	5,86	6,01	0,92		
9	5,88	0,09	0,04	5,74	6,03	1,61		
12	5,86	0,01	0,005	5,85	5,87	0,15		
15	5,88	0,03	0,01	5,85	5,92	0,45		

**Tabela 24.** Prosečana pH vrednost nekontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,02	0,02	0,01	5,99	6,05	0,39		
3	5,91	0,03	0,01	5,87	5,94	0,54		
6	5,92	0,03	0,01	5,88	5,95	0,45		
9	5,95	0,05	0,02	5,91	6,05	0,90		
12	5,94	0,04	0,02	5,89	5,99	0,72		
15	5,91	0,02	0,01	5,88	5,94	0,39		

**Tabela 25.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,98	0,02	0,01	5,96	6,00	0,27		
3	6,23	0,02	0,01	6,20	6,25	0,30		
6	5,93	0,07	0,03	5,85	6,01	1,12		
9	5,69	0,02	0,01	5,67	5,71	0,29		
12	5,70	0,01	0,01	5,68	5,72	0,25		
15	5,89	0,03	0,01	5,84	5,93	0,59		

**Tabela 26.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,99	0,03	0,01	5,96	6,02	0,43		
3	6,11	0,01	0,01	6,09	6,13	0,22		
6	5,81	0,01	0,00	5,80	5,82	0,17		
9	5,72	0,01	0,01	5,70	5,74	0,25		
12	5,76	0,01	0,00	5,74	5,77	0,20		
15	5,80	0,03	0,01	5,76	5,84	0,53		

**Tabela 27.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanih u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,00	0,02	0,01	5,98	6,02	0,27		
3	6,11	0,01	0,01	6,09	6,12	0,22		
6	5,94	0,01	0,01	5,92	5,96	0,23		
9	5,76	0,03	0,01	5,72	5,80	0,52		
12	5,75	0,02	0,01	5,72	5,77	0,36		
15	5,87	0,01	0,01	5,85	5,88	0,24		

**Tabela 28.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanih u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,96	0,02	0,01	5,94	5,98	0,27		
3	6,09	0,01	0,01	6,07	6,11	0,24		
6	5,96	0,03	0,01	5,93	6,00	0,43		
9	5,84	0,01	0,01	5,82	5,86	0,24		
12	5,84	0,07	0,03	5,75	5,94	1,28		
15	5,90	0,01	0,00	5,88	5,91	0,18		

**Tabela 29.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,98	0,01	0,01	5,96	6,00	0,25		
3	6,22	0,03	0,01	6,19	6,25	0,41		
6	5,95	0,02	0,01	5,93	5,97	0,27		
9	5,72	0,01	0,01	5,70	5,74	0,24		
12	5,64	0,03	0,01	5,60	5,68	0,61		
15	5,81	0,04	0,02	5,77	5,86	0,66		

**Tabela 30.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,99	0,03	0,01	5,95	6,03	0,52		
3	6,11	0,01	0,01	6,09	6,12	0,21		
6	5,91	0,06	0,03	5,84	6,00	1,09		
9	5,73	0,01	0,00	5,72	5,75	0,20		
12	5,70	0,02	0,01	5,67	5,72	0,35		
15	5,81	0,02	0,01	5,79	5,83	0,28		

**Tabela 31.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanih u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	6,01	0,02	0,01	5,98	6,03	0,31		
3	6,11	0,01	0,00	6,09	6,12	0,19		
6	5,91	0,05	0,02	5,84	5,97	0,83		
9	5,80	0,01	0,00	5,78	5,81	0,18		
12	5,70	0,01	0,00	5,69	5,71	0,16		
15	5,83	0,03	0,01	5,79	5,86	0,53		

**Tabela 32.** Prosečana pH vrednost kontaminiranih uzoraka mlevenog mesa upakovanih u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	5,96	0,02	0,01	5,94	5,98	0,27		
3	6,09	0,02	0,01	6,07	6,12	0,29		
6	5,98	0,05	0,02	5,92	6,05	0,77		
9	5,97	0,03	0,01	5,92	6,00	0,52		
12	5,81	0,06	0,02	5,75	5,89	0,99		
15	5,83	0,02	0,01	5,80	5,86	0,40		

## PRILOG H

### Promena TVN vrednosti

**Tabela 1.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	11,42	0,52	0,21	11,00	12,12	4,52		
3	13,85	0,24	0,10	13,52	14,15	1,76		
6	17,90	0,20	0,08	17,52	18,09	1,11		
9	22,65	0,45	0,18	22,01	22,99	1,97		
12	26,21	0,26	0,11	25,87	26,64	1,01		
15	29,14	0,61	0,25	28,56	30,25	2,10		

**Tabela 2.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	11,39	0,12	0,05	11,24	11,53	1,09		
3	12,97	0,11	0,05	12,80	13,12	0,85		
6	16,13	0,14	0,06	15,99	16,36	0,86		
9	19,34	0,17	0,07	19,12	19,54	0,89		
12	23,65	0,13	0,05	23,45	23,82	0,55		
15	26,42	0,42	0,17	26,02	27,02	1,59		

**Tabela 3.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	11,01	0,30	0,12	10,68	11,55	2,76		
3	12,71	0,35	0,14	12,05	13,02	2,74		
6	15,92	0,32	0,13	15,35	16,25	2,00		
9	18,98	0,11	0,04	18,78	19,09	0,57		
12	22,67	0,40	0,16	21,94	23,04	1,75		
15	25,07	0,34	0,14	24,45	25,45	1,34		

**Tabela 4.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	10,94	0,25	0,10	10,68	11,25	2,30		
3	11,45	0,27	0,11	11,05	11,87	2,37		
6	14,87	0,15	0,06	14,68	15,06	1,00		
9	18,44	0,67	0,27	17,83	19,54	3,61		
12	21,17	0,17	0,07	20,98	21,48	0,82		
15	23,85	0,26	0,11	23,52	24,12	1,11		

**Tabela 5.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	11,24	11,32	11,12	11,46	11,54	12,03		
3	15,40	15,60	15,36	15,54	15,52	15,09		
6	18,96	18,00	18,99	18,19	18,88	18,12		
9	23,43	23,00	23,23	23,36	23,95	24,12		
12	29,45	33,80	29,22	31,67	30,57	33,53		
15	33,21	34,98	33,19	34,78	34,65	33,57		

**Tabela 6.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	11,35	0,10	0,04	11,20	11,48	0,92		
3	13,67	0,13	0,05	13,42	13,78	0,93		
6	16,71	0,34	0,14	16,12	17,02	2,03		
9	21,70	0,48	0,19	21,06	22,09	2,19		
12	24,69	0,39	0,16	24,06	25,12	1,60		
15	28,24	0,40	0,17	27,89	29,03	1,43		

**Tabela 7.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	11,23	0,32	0,13	10,98	11,87	2,89		
3	13,09	0,20	0,08	12,87	13,45	1,50		
6	16,13	0,10	0,04	16,00	16,23	0,61		
9	21,10	0,43	0,18	20,51	21,56	2,05		
12	23,29	0,57	0,23	22,21	23,74	2,47		
15	26,94	0,53	0,22	26,32	27,54	1,96		

**Tabela 8.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	11,36	0,45	0,18	11,05	11,95	3,92		
3	12,92	0,08	0,03	12,82	13,02	0,60		
6	15,59	0,39	0,16	15,12	16,02	2,48		
9	20,78	0,39	0,16	20,02	21,12	1,86		
12	22,22	0,68	0,28	21,03	22,98	3,05		
15	25,07	0,80	0,33	23,89	26,03	3,20		

**Tabela 9.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,30	0,04	0,02	9,25	9,36	0,43		
3	11,80	0,11	0,04	11,63	11,91	0,91		
6	16,19	0,12	0,05	16,03	16,32	0,73		
9	20,01	0,11	0,04	19,87	20,13	0,53		
12	22,53	0,61	0,25	21,76	23,41	2,72		
15	27,87	0,16	0,07	27,63	28,03	0,57		

**Tabela 10.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,30	0,03	0,01	9,25	9,34	0,36		
3	10,62	0,16	0,06	10,43	10,83	1,47		
6	14,24	0,09	0,03	14,12	14,33	0,60		
9	17,27	0,16	0,06	17,06	17,46	0,92		
12	19,63	0,55	0,22	19,15	20,46	2,80		
15	21,77	0,39	0,16	21,03	22,06	1,79		

**Tabela 11.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,27	9,36	0,36%	9,29	0,03	0,01		
3	10,18	10,34	0,57%	10,27	0,06	0,02		
6	12,57	12,78	0,63%	12,67	0,08	0,03		
9	12,04	13,02	2,97%	12,82	0,38	0,16		
12	16,82	17,90	3,03%	17,52	0,53	0,22		
15	19,13	20,33	2,18%	19,91	0,43	0,18		

**Tabela 12.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanih u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,29	0,04	0,02	9,24	9,36	0,48		
3	9,53	0,11	0,04	9,38	9,65	1,16		
6	10,35	0,09	0,04	10,23	10,49	0,90		
9	12,67	0,17	0,07	12,49	12,88	1,31		
12	14,96	0,06	0,03	14,87	15,03	0,42		
15	17,31	0,48	0,20	16,89	17,94	2,79		

**Tabela 13.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,30	0,04	0,02	9,26	9,36	0,42		
3	13,06	0,08	0,03	12,94	13,14	0,61		
6	17,84	0,54	0,22	17,26	18,39	3,03		
9	26,21	0,06	0,03	26,12	26,28	0,24		
12	30,02	0,07	0,03	29,94	30,12	0,23		
15	31,95	0,36	0,15	31,72	32,68	1,13		

**Tabela 14.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,30	0,03	0,01	9,28	9,35	0,30		
3	11,58	0,04	0,02	11,52	11,64	0,38		
6	15,93	0,12	0,05	15,80	16,09	0,75		
9	19,38	0,42	0,17	19,15	20,23	2,16		
12	22,02	0,07	0,03	21,93	22,11	0,34		
15	25,01	0,04	0,01	24,97	25,06	0,14		

**Tabela 15.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,25	9,36	0,49%	9,30	0,05	0,02		
3	10,98	11,06	0,26%	11,01	0,03	0,01		
6	13,96	14,13	0,50%	14,06	0,07	0,03		
9	17,07	17,23	0,36%	17,15	0,06	0,02		
12	17,29	18,34	2,25%	18,11	0,41	0,17		
15	20,58	21,79	2,56%	21,03	0,54	0,22		

**Tabela 16.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,29	0,03	0,01	9,26	9,34	0,36		
3	10,24	0,41	0,17	9,98	11,07	4,03		
6	12,59	0,07	0,03	12,49	12,68	0,57		
9	14,23	0,52	0,21	13,52	14,61	3,67		
12	16,60	0,60	0,24	16,00	17,18	3,59		
15	20,13	0,67	0,27	19,32	20,96	3,32		

**Tabela 17.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,30	0,04	0,02	9,25	9,36	0,43		
3	11,80	0,11	0,04	11,63	11,91	0,91		
6	16,19	0,12	0,05	16,03	16,32	0,73		
9	20,01	0,11	0,04	19,87	20,13	0,53		
12	22,53	0,61	0,25	21,76	23,41	2,72		
15	27,87	0,16	0,07	27,63	28,03	0,57		

**Tabela 18.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,30	0,03	0,01	9,25	9,34	0,36		
3	10,62	0,16	0,06	10,43	10,83	1,47		
6	14,24	0,09	0,03	14,12	14,33	0,60		
9	17,27	0,16	0,06	17,06	17,46	0,92		
12	19,63	0,55	0,22	19,15	20,46	2,80		
15	21,77	0,39	0,16	21,03	22,06	1,79		

**Tabela 19.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,29	0,03	0,01	9,27	9,36	0,36		
3	10,27	0,06	0,02	10,18	10,34	0,57		
6	12,67	0,08	0,03	12,57	12,78	0,63		
9	12,82	0,38	0,16	12,04	13,02	2,97		
12	17,52	0,53	0,22	16,82	17,90	3,03		
15	19,91	0,43	0,18	19,13	20,33	2,18		

**Tabela 20.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,29	0,04	0,02	9,24	9,36	0,48		
3	9,53	0,11	0,04	9,38	9,65	1,16		
6	10,35	0,09	0,04	10,23	10,49	0,90		
9	12,67	0,17	0,07	12,49	12,88	1,31		
12	14,96	0,06	0,03	14,87	15,03	0,42		
15	17,31	0,48	0,20	16,89	17,94	2,79		

**Tabela 21.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,30	0,04	0,02	9,26	9,36	0,42		
3	13,06	0,08	0,03	12,94	13,14	0,61		
6	17,84	0,54	0,22	17,26	18,39	3,03		
9	26,21	0,06	0,03	26,12	26,28	0,24		
12	30,02	0,07	0,03	29,94	30,12	0,23		
15	31,95	0,36	0,15	31,72	32,68	1,13		

**Tabela 22.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,30	0,03	0,01	9,28	9,35	0,30		
3	11,58	0,04	0,02	11,52	11,64	0,38		
6	15,93	0,12	0,05	15,80	16,09	0,75		
9	19,38	0,42	0,17	19,15	20,23	2,16		
12	22,02	0,07	0,03	21,93	22,11	0,34		
15	25,01	0,04	0,01	24,97	25,06	0,14		

**Tabela 23.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,30	0,05	0,02	9,25	9,36	0,49		
3	11,01	0,03	0,01	10,98	11,06	0,26		
6	14,06	0,07	0,03	13,96	14,13	0,50		
9	17,15	0,06	0,02	17,07	17,23	0,36		
12	18,11	0,41	0,17	17,29	18,34	2,25		
15	21,03	0,54	0,22	20,58	21,79	2,56		

**Tabela 24.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	9,29	0,03	0,01	9,26	9,34	0,36		
3	10,24	0,41	0,17	9,98	11,07	4,03		
6	12,59	0,07	0,03	12,49	12,68	0,57		
9	14,23	0,52	0,21	13,52	14,61	3,67		
12	16,60	0,60	0,24	16,00	17,18	3,59		
15	20,13	0,67	0,27	19,32	20,96	3,32		

**Tabela 25.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	10,84	0,27	0,11	10,39	11,07	2,45		
3	14,99	0,11	0,04	14,87	15,15	0,72		
6	25,01	0,57	0,23	24,36	25,63	2,27		
9	30,55	0,03	0,01	30,52	30,58	0,09		
12	33,60	0,04	0,02	33,54	33,65	0,12		
15	41,67	1,35	0,55	40,05	43,51	3,24		

**Tabela 26.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	10,70	0,26	0,11	10,39	11,03	2,46		
3	14,91	0,10	0,04	14,80	15,05	0,65		
6	23,31	0,48	0,20	22,75	23,82	2,06		
9	25,23	0,03	0,01	25,20	25,28	0,12		
12	30,57	0,05	0,02	30,52	30,63	0,15		
15	32,23	1,22	0,50	30,56	33,68	3,78		

**Tabela 27.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/ 100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	10,67	0,24	0,10	10,39	10,99	2,25		
3	14,24	0,11	0,05	14,02	14,32	0,80		
6	21,08	0,40	0,16	20,33	21,34	1,91		
9	23,51	0,51	0,21	23,10	24,19	2,15		
12	29,27	0,20	0,08	29,12	29,67	0,69		
15	30,61	0,59	0,24	29,56	31,25	1,94		

**Tabela 28.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/ 100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	10,62	0,20	0,08	10,39	10,89	1,85		
3	14,25	0,30	0,12	13,90	14,65	2,09		
6	19,37	0,04	0,02	19,32	19,42	0,21		
9	22,54	0,11	0,04	22,40	22,68	0,48		
12	27,61	0,11	0,05	27,44	27,72	0,41		
15	29,96	0,66	0,27	28,90	30,78	2,20		

**Tabela 29.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/ 100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	10,78	0,30	0,12	10,39	11,07	2,74		
3	16,96	0,63	0,26	15,89	17,61	3,74		
6	28,31	0,02	0,01	28,28	28,34	0,09		
9	33,64	0,04	0,02	33,60	33,68	0,12		
12	35,43	0,85	0,35	34,44	36,72	2,40		
15	46,18	0,98	0,40	44,95	47,54	2,11		

**Tabela 30.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/ 100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	10,75	0,24	0,10	10,39	11,03	2,20		
3	15,21	0,40	0,16	14,74	15,68	2,61		
6	25,93	0,48	0,20	25,29	26,31	1,87		
9	28,18	0,10	0,04	28,00	28,28	0,36		
12	32,24	0,03	0,01	32,20	32,28	0,09		
15	33,75	0,68	0,28	32,56	34,56	2,03		

**Tabela 31.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/ 100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	10,67	0,24	0,10	10,39	10,99	2,28		
3	14,36	0,23	0,09	14,09	14,62	1,58		
6	23,62	0,52	0,21	23,14	24,12	2,20		
9	25,33	0,09	0,04	25,20	25,41	0,34		
12	30,04	0,51	0,21	29,68	30,72	1,71		
15	32,26	0,63	0,26	31,54	33,00	1,97		

**Tabela 32.** Promena sadržaja ukupnog isparljivog azota (mg N/ 100g) u kontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	10,67	0,21	0,09	10,39	10,89	1,98		
3	14,60	0,32	0,13	14,00	14,85	2,17		
6	21,09	0,49	0,20	20,70	21,73	2,34		
9	24,96	0,03	0,01	24,92	24,99	0,11		
12	28,11	0,10	0,04	27,98	28,20	0,35		
15	30,63	1,25	0,51	28,45	31,68	4,08		

## PRILOG I

Promene kiselinskog broja i TBK vrednosti tokom perioda skladištenja

**Tabela 1.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	kiselinski broj $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,24	0,03	0,01	0,21	0,29	12,11		
3	0,43	0,03	0,01	0,37	0,46	7,44		
6	0,46	0,04	0,02	0,42	0,52	8,15		
9	0,59	0,03	0,01	0,54	0,63	5,50		
12	0,57	0,05	0,02	0,49	0,63	8,14		
15	0,70	0,05	0,02	0,62	0,77	7,40		

**Tabela 2.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	kiselinski broj $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,24	0,32	0,01	0,20	0,29	13,9		
3	0,36	0,03	0,01	0,32	0,42	9,29		
6	0,41	0,03	0,01	0,37	0,46	7,72		
9	0,52	0,03	0,01	0,46	0,56	6,69		
12	0,56	0,01	0,006	0,54	0,58	2,45		
15	0,63	0,03	0,01	0,58	0,67	4,85		

**Tabela 3.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	kiselinski broj $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,24	0,02	0,01	0,22	0,28	9,94		
3	0,30	0,03	0,01	0,26	0,24	9,19		
6	0,40	0,02	0,01	0,36	0,43	5,82		
9	0,50	0,03	0,01	0,46	0,54	5,23		
12	0,52	0,04	0,02	0,46	0,57	8,16		
15	0,55	0,01	0,004	0,53	0,56	1,92		

**Tabela 4.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	kiselinski broj $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,24	0,03	0,01	0,20	0,29	14,31		
3	0,28	0,03	0,01	0,23	0,33	12,18		
6	0,29	0,02	0,007	0,27	0,31	5,91		
9	0,49	0,02	0,009	0,47	0,53	4,38		
12	0,54	0,01	0,005	0,53	0,56	2,23		
15	0,51	0,01	0,005	0,50	0,53	2,36		

**Tabela 5.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	kiselinski broj $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,24	0,03	0,01	0,21	0,29	12,11		
3	0,37	0,01	0,006	0,35	0,38	3,78		
6	0,44	0,02	0,01	0,40	0,47	5,62		
9	0,44	0,03	0,01	0,40	0,48	6,58		
12	0,43	0,01	0,004	0,42	0,44	2,30		
15	0,60	0,02	0,009	0,58	0,64	3,56		

**Tabela 6.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	kiselinski broj $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,25	0,03	0,01	0,21	0,29	13,63		
3	0,33	0,01	0,004	0,31	0,34	3,16		
6	0,33	0,02	0,008	0,30	0,36	6,15		
9	0,44	0,03	0,01	0,40	0,49	6,83		
12	0,44	0,02	0,008	0,41	0,47	4,73		
15	0,56	0,03	0,01	0,52	0,61	5,79		

**Tabela 7.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,24	0,03	0,01	0,20	0,29	12,93		
3	0,25	0,008	0,003	0,24	0,26	3,22		
6	0,28	0,01	0,006	0,26	0,30	5,90		
9	0,51	0,02	0,01	0,46	0,53	4,94		
12	0,48	0,01	0,004	0,47	0,50	2,16		
15	0,51	0,02	0,01	0,47	0,55	5,39		

**Tabela 8.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,24	0,03	0,01	0,20	0,28	11,99		
3	0,24	0,03	0,01	0,20	0,28	11,76		
6	0,30	0,01	0,006	0,29	0,32	4,52		
9	0,32	0,03	0,01	0,28	0,35	8,45		
12	0,33	0,02	0,01	0,30	0,36	7,27		
15	0,41	0,03	0,01	0,38	0,45	6,41		

**Tabela 9.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,69	0,02	0,007	0,67	0,71	2,36		
3	0,68	0,01	0,005	0,66	0,69	1,72		
6	0,69	0,01	0,006	0,67	0,71	2,05		
9	0,92	0,02	0,009	0,89	0,94	2,28		
12	1,08	0,02	0,007	1,06	1,10	1,51		
15	1,65	0,02	0,007	1,62	1,67	1,08		

**Tabela 10.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,69	0,02	0,007	0,67	0,71	2,32		
3	0,51	0,02	0,007	0,49	0,53	3,39		
6	0,67	0,02	0,008	0,64	0,69	2,81		
9	0,84	0,04	0,01	0,79	0,88	4,22		
12	0,97	0,02	0,007	0,95	0,99	1,68		
15	1,42	0,03	0,01	1,38	1,46	1,92		

**Tabela 11.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,69	0,02	0,007	0,67	0,71	2,36		
3	0,48	0,02	0,007	0,45	0,49	3,46		
6	0,64	0,01	0,006	0,62	0,66	2,21		
9	0,87	0,03	0,010	0,83	0,90	3,17		
12	0,94	0,02	0,007	0,92	0,96	1,73		
15	1,26	0,02	0,007	1,24	1,29	1,37		

**Tabela 12.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,69	0,02	0,008	0,67	0,72	2,95		
3	0,43	0,02	0,007	0,40	0,45	3,87		
6	0,51	0,01	0,006	0,49	0,53	2,77		
9	0,61	0,01	0,006	0,59	0,63	2,32		
12	0,86	0,01	0,006	0,84	0,88	1,71		
15	1,13	0,04	0,02	1,08	1,19	3,38		

**Tabela 13.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,69	0,01	0,006	0,67	0,71	2,13		
3	0,65	0,01	0,004	0,63	0,66	1,63		
6	0,75	0,01	0,004	0,73	0,76	1,41		
9	0,84	0,03	0,01	0,80	0,88	3,45		
12	0,92	0,01	0,004	0,90	0,93	1,15		
15	1,29	0,01	0,006	1,27	1,31	1,14		

**Tabela 14.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,70	0,02	0,008	0,68	0,73	2,69		
3	0,64	0,02	0,008	0,62	0,67	3,28		
6	0,67	0,01	0,006	0,65	0,69	2,11		
9	0,89	0,01	0,005	0,88	0,91	1,42		
12	0,97	0,01	0,006	0,95	0,99	1,51		
15	1,21	0,03	0,01	1,17	1,25	2,67		

**Tabela 15.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,69	0,02	0,01	0,64	0,71	3,61		
3	0,38	0,02	0,007	0,35	0,40	4,99		
6	0,63	0,03	0,01	0,59	0,67	4,14		
9	0,73	0,01	0,005	0,71	0,75	1,82		
12	0,81	0,03	0,01	0,77	0,85	3,49		
15	1,16	0,04	0,02	1,11	1,20	3,58		

**Tabela 16.** Promene vrednosti kiselinskog broja (mg KOH/g) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	$\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,69	0,01	0,006	0,67	0,71	2,05		
3	0,26	0,02	0,007	0,23	0,28	6,67		
6	0,48	0,02	0,007	0,46	0,50	3,38		
9	0,61	0,02	0,009	0,58	0,64	3,52		
12	0,77	0,02	0,008	0,74	0,79	2,45		
15	0,97	0,01	0,006	0,95	0,99	1,52		

**Tabela 17.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,12	0,001	0,002	0,11	0,12	3,45		
3	0,25	0,01	0,002	0,24	0,25	2,09		
6	0,22	0,01	0,005	0,20	0,23	5,59		
9	0,32	0,01	0,005	0,30	0,33	3,82		
12	0,40	0,01	0,003	0,39	0,41	2,07		
15	0,65	0,01	0,003	0,64	0,66	0,97		

**Tabela 18.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,12	0,01	0,004	0,11	0,13	8,31		
3	0,17	0,01	0,003	0,16	0,18	4,47		
6	0,20	0,01	0,002	0,19	0,20	2,63		
9	0,21	0,01	0,003	0,20	0,22	3,61		
12	0,22	0,01	0,004	0,21	0,23	4,50		
15	0,23	0,02	0,006	0,20	0,24	6,64		

**Tabela 19.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,12	0,01	0,002	0,11	0,12	4,43		
3	0,16	0,01	0,003	0,15	0,17	3,95		
6	0,18	0,01	0,004	0,17	0,19	5,41		
9	0,20	0,01	0,002	0,19	0,2	2,81		
12	0,22	0,01	0,002	0,21	0,22	2,38		
15	0,20	0,01	0,006	0,18	0,22	7,07		

**Tabela 20.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,11	0,01	0,003	0,10	0,12	7,20		
3	0,13	0,01	0,003	0,12	0,14	5,72		
6	0,16	0,01	0,002	0,16	0,17	3,16		
9	0,17	0,01	0,003	0,16	0,18	3,72		
12	0,21	0,01	0,004	0,19	0,22	5,12		
15	0,17	0,01	0,006	0,14	0,18	8,35		

**Tabela 21.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,12	0,01	0,002	0,11	0,12	4,43		
3	0,18	0,01	0,003	0,17	0,19	3,51		
6	0,19	0,01	0,003	0,18	0,20	3,93		
9	0,25	0,01	0,004	0,23	0,26	4,19		
12	0,21	0,01	0,004	0,20	0,22	4,26		
15	0,29	0,01	0,005	0,27	0,31	4,36		

**Tabela 22.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_V\%$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,12	0,01	0,003	0,11	0,13	7,00		
3	0,14	0,01	0,004	0,13	0,16	7,82		
6	0,16	0,01	0,005	0,15	0,18	7,91		
9	0,17	0,01	0,006	0,15	0,18	8,35		
12	0,18	0,004	0,002	0,17	0,18	2,29		
15	0,21	0,005	0,002	0,21	0,22	2,42		

**Tabela 23.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,12	0,005	0,002	0,11	0,12	4,76		
3	0,13	0,01	0,003	0,12	0,14	5,72		
6	0,15	0,01	0,003	0,14	0,16	4,22		
9	0,15	0,01	0,003	0,14	0,16	4,96		
12	0,19	0,01	0,002	0,18	0,19	2,96		
15	0,18	0,01	0,003	0,17	0,19	4,62		

**Tabela 24.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja timijana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,11	0,01	0,003	0,10	0,12	6,74		
3	0,11	0,01	0,004	0,10	0,12	8,13		
6	0,12	0,01	0,004	0,11	0,13	7,45		
9	0,14	0,01	0,004	0,13	0,15	6,39		
12	0,14	0,01	0,003	0,13	0,15	5,31		
15	0,13	0,01	0,004	0,12	0,15	7,75		

**Tabela 25.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,16	0,005	0,002	0,15	0,16	3,30		
3	0,25	0,02	0,009	0,22	0,28	9,21		
6	0,35	0,01	0,006	0,33	0,37	4,19		
9	0,51	0,04	0,02	0,46	0,57	8,78		
12	0,67	0,01	0,005	0,65	0,69	2,11		
15	0,75	0,01	0,004	0,74	0,77	1,37		

**Tabela 26.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,15	0,01	0,005	0,13	0,17	8,91		
3	0,22	0,02	0,007	0,19	0,24	8,40		
6	0,21	0,03	0,01	0,18	0,25	15,06		
9	0,23	0,01	0,006	0,22	0,26	6,35		
12	0,28	0,02	0,006	0,26	0,29	5,44		
15	0,35	0,01	0,006	0,33	0,36	4,00		

**Tabela 27.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,15	0,007	0,003	0,14	0,16	4,96		
3	0,20	0,02	0,009	0,16	0,22	12,03		
6	0,22	0,03	0,01	0,18	0,26	12,86		
9	0,21	0,02	0,007	0,18	0,22	8,81		
12	0,26	0,009	0,004	0,25	0,27	3,44		
15	0,28	0,02	0,008	0,26	0,30	6,78		

**Tabela 28.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u modifikovanu atmosferu, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,15	0,007	0,003	0,14	0,16	4,96		
3	0,16	0,01	0,005	0,14	0,18	8,72		
6	0,17	0,01	0,004	0,15	0,18	6,36		
9	0,18	0,005	0,002	0,17	0,18	2,92		
12	0,24	0,02	0,008	0,21	0,26	7,96		
15	0,23	0,01	0,005	0,22	0,25	5,50		

**Tabela 29.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, bez dodatka etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,15	0,01	0,005	0,14	0,17	7,71		
3	0,20	0,02	0,009	0,18	0,23	10,60		
6	0,20	0,02	0,006	0,19	0,23	7,40		
9	0,24	0,02	0,009	0,20	0,26	8,74		
12	0,27	0,02	0,007	0,25	0,29	5,97		
15	0,30	0,02	0,008	0,27	0,32	6,34		

**Tabela 30.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,3% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	$I_V$				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,15	0,01	0,004	0,14	0,17	6,74		
3	0,16	0,01	0,004	0,14	0,17	6,77		
6	0,22	0,02	0,007	0,20	0,24	8,19		
9	0,20	0,01	0,003	0,19	0,21	4,47		
12	0,21	0,02	0,008	0,18	0,24	9,22		
15	0,24	0,01	0,005	0,22	0,25	5,58		

**Tabela 31.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,6% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,15	0,01	0,005	0,13	0,17	8,76		
3	0,14	0,01	0,006	0,12	0,16	10,10		
6	0,15	0,02	0,008	0,12	0,18	13,33		
9	0,19	0,01	0,006	0,17	0,20	7,45		
12	0,19	0,02	0,009	0,16	0,22	12,30		
15	0,19	0,01	0,006	0,17	0,21	7,44		

**Tabela 32.** Promene TBK vrednosti (mg MDA/kg) u nekontaminiranim uzorcima mlevenog mesa upakovanog u vakuum, sa dodatkom 0,9% etarskog ulja origana tokom perioda skladištenja

Dan ispitivanja	TBK $\bar{X}$	Mere varijacije					$C_{V\%}$	
		$S_d$	$S_e$	I <sub>V</sub>				
				$X_{min}$	$X_{max}$			
0	0,15	0,007	0,003	0,14	0,16	4,96		
3	0,09	0,01	0,004	0,07	0,10	12,34		
6	0,11	0,01	0,005	0,10	0,13	11,35		
9	0,11	0,02	0,008	0,08	0,14	18,18		
12	0,14	0,01	0,004	0,13	0,15	6,94		
15	0,15	0,01	0,004	0,13	0,16	7,04		

## PRILOG J

Promene koncentracije gasova u modifikovanoj atmosferi

**Tabela 1.** Koncentracija kiseonika, ugljen dioksida i azota (%) u modifikovanoj atmosferi u nekontaminiranim uzorcima bez i sa dodatkom različitih koncentracija (0,3%, 0,6% i 0,9%) etarskog ulja timijana trećeg dana skladištenja

	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
MAP+ 0,3% EUT	29,40	36,10	34,50
MAP+ 0,6% EUT	30,00	36,10	33,90
MAP+ 0,9% EUT	30,90	36,30	32,80
MAP	25,80	40,20	34,00

**Tabela 2.** Koncentracija kiseonika, ugljen dioksida i azota (%) u modifikovanoj atmosferi u nekontaminiranim uzorcima bez i sa dodatkom različitih koncentracija (0,3%, 0,6% i 0,9%) etarskog ulja timijana šestog dana skladištenja

	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
MAP+ 0,3% EUT	29,00	35,30	35,70
MAP+ 0,6% EUT	30,30	33,60	36,10
MAP+ 0,9% EUT	30,10	31,90	38,00
MAP	21,20	42,40	36,40

**Tabela 3.** Koncentracija kiseonika, ugljen dioksida i azota (%) u modifikovanoj atmosferi u nekontaminiranim uzorcima bez i sa dodatkom različitih koncentracija (0,3%, 0,6% i 0,9%) etarskog ulja timijana devotog dana skladištenja

	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
MAP+ 0,3% EUT	29,40	35,00	35,60
MAP+ 0,6% EUT	30,30	32,90	36,80
MAP+ 0,9% EUT	30,40	30,20	39,40
MAP	18,10	44,10	37,80

**Tabela 4.** Koncentracija kiseonika, ugljen dioksida i azota (%) u modifikovanoj atmosferi u nekontaminiranim uzorcima bez i sa dodatkom različitih koncentracija (0,3%, 0,6% i 0,9%) etarskog ulja timijana dvanaestog dana skladištenja

	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
MAP+ 0,3% EUT	23,30	42,60	34,10
MAP+ 0,6% EUT	29,70	36,30	34,00
MAP+ 0,9% EUT	30,80	33,40	35,80
MAP	17,70	53,70	28,60

**Tabela 5.** Koncentracija kiseonika, ugljen dioksida i azota (%) u modifikovanoj atmosferi u nekontaminiranim uzorcima bez i sa dodatkom različitih koncentracija (0,3%, 0,6% i 0,9%) etarskog ulja timijana petnaestog dana skladištenja

	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
MAP+ 0,3% EUT	24,30	42,30	33,40
MAP+ 0,6% EUT	28,60	37,00	34,40
MAP+ 0,9% EUT	30,10	35,10	34,80
MAP	16,60	52,40	31,00

**Tabela 6.** Koncentracija kiseonika, ugljen dioksida i azota (%) u modifikovanoj atmosferi u nekontaminiranim uzorcima bez i sa dodatkom različitih koncentracija (0,3%, 0,6% i 0,9%) etarskog ulja origana trećeg dana skladištenja

	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
MAP+ 0,3% EUO	30,70	37,50	31,80
MAP+ 0,6% EUO	30,40	35,50	34,10
MAP+ 0,9% EUO	30,70	34,20	35,10
MAP	27,50	40,10	32,40

**Tabela 7.** Koncentracija kiseonika, ugljen dioksida i azota (%) u modifikovanoj atmosferi u nekontaminiranim uzorcima bez i sa dodatkom različitih koncentracija (0,3%, 0,6% i 0,9%) etarskog ulja origana šestog dana skladištenja

	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
MAP+ 0,3% EUO	27,80	34,20	38,00
MAP+ 0,6% EUO	30,90	34,80	34,30
MAP+ 0,9% EUO	29,40	33,50	37,10
MAP	28,10	35,80	36,10

**Tabela 8.** Koncentracija kiseonika, ugljen dioksida i azota (%) u modifikovanoj atmosferi u nekontaminiranim uzorcima bez i sa dodatkom različitih koncentracija (0,3%, 0,6% i 0,9%) etarskog ulja origana devetog dana skladištenja

	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
MAP+ 0,3% EUO	25,50	37,50	37,00
MAP+ 0,6% EUO	29,00	33,90	37,10
MAP+ 0,9% EUO	30,60	32,10	37,30
MAP	22,70	33,60	43,70

**Tabela 9.** Koncentracija kiseonika, ugljen dioksida i azota (%) u modifikovanoj atmosferi u nekontaminiranim uzorcima bez i sa dodatkom različitih koncentracija (0,3%, 0,6% i 0,9%) etarskog ulja origana dvanaestog dana skladištenja

	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
MAP+ 0,3% EUO	23,50	36,00	40,50
MAP+ 0,6% EUO	28,80	33,50	37,70
MAP+ 0,9% EUO	29,90	32,50	37,60
MAP	18,90	38,50	42,60

**Tabela 10.** Koncentracija kiseonika, ugljen dioksida i azota (%) u modifikovanoj atmosferi u nekontaminiranim uzorcima bez i sa dodatkom različitih koncentracija (0,3%, 0,6% i 0,9%) etarskog ulja origana petnaestog dana skladištenja

	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>
MAP+ 0,3% EUO	22,80	38,70	38,50
MAP+ 0,6% EUO	28,80	36,70	34,50
MAP+ 0,9% EUO	29,70	34,40	35,90
MAP	18,70	43,40	37,90

## **Biografija**

Marija Bošković, rođena je 06.11.1987. godine u Beogradu. Nakon završene Zemunske gimnazije, fakultet veterinarske medicine, Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2006/2007 godine. Integrisane osnovne i master akademske studije završila je sa prosečnom ocenom položenih ispita 9,25, a diplomski rad pod naslovom „Isuficijencija egzokrinog pankreasa: etiopatogeneza, dijagnostika i terapija“ odbranila je 19.09.2012. sa ocenom 10, čime je stekla zvanje doktor veterinarske medicine. Doktorske akademske studije na Fakultetu veterinarske medicine, Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2012/2013 godine. U periodu od oktobra 2012. god. do oktobra 2013. god. odradila je staž na Katedri za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla, Fakulteta veterinarske medicine, Univerziteta u Beogradu. Od decembra 2012. god. zaposlena je na fakultetu veterinarske medicine kao istraživač saradnik na naučnom projektu iz programa Tehnološki razvoj, finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije: „Odabrane biološke opasnosti za bezbednost/kvalitet hrane animalnog porekla i kontolne mere od farme do potrošača“ (Ev. br. TR 31034). Govori tečno engleski jezik, a takođe se služi i španskim i francuskim jezikom. Usavršavala se u zemlji i inostranstvu, a kao autor ili koautor do sada je objavila više od 50 naučnih i stručnih radova u časopisima od nacionalnog i međunarodnog značaja i na naučnim skupovima nacionalnog i međunarodnog značaja. Recenzirala je sedam radova u inostranim časopisima i koautor je dva tehnička rešenja. Doktorske akademske studije završila je sa prosekom 9,87.

Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписани-а Марија Д. Бошковић  
број уписа 16/8

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Испитивање утицаја одабраних етарских уља на раст *Salmonella* spp. у месу свиња  
пакованог у вакуум и модификовану атмосферу“

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 11.05.2016.

Марија Ђаковић

**Прилог 2.**

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије  
докторског рада**

Име и презиме аутора Марија Д. Бошковић

Број уписа 16/8

Студијски програм докторске академске студије

Наслов рада : „Испитивање утицаја одабраних етарских уља на раст Salmonella spp. у месу свиња пакованог у вакуум и модификовану атмосферу“

Ментор проф. др Милан Ж. Балтић

Потписани Марија Д. Бошковић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одbrane рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис докторанда**

У Београду, 11.05.2016

Марија Д. Бошковић

**Прилог 3.**

**Изјава о коришћењу**

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

„Испитивање утицаја одабраних етарских уља на раст *Salmonella* spp. у месу свиња пакованог у вакуум и модификовану атмосферу“

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

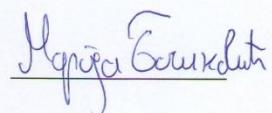
Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

**Потпис докторанда**

У Београду, 11.05.2016



1. Ауторство - Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцима, односно лиценцима отвореног кода.