

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ
Мр Јелена Пејин, дипломирани инжењер технологије

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
1. Датум и орган који је именовao комисију Наставно-Научно Веће Технолошког факултета Универзитета у Новом Саду на XXXIX редовној седници одржаној 13.03.2009. године, решење број: 020-2/39 од 25.03.2009. године
2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен: др Јасна Чанадановић-Брунет, редовни професор, Примењене и инжењерске хемије, 15.05.2008. године, Технолошки факултет, Нови Сад, председник др Олгица Грујић, редовни професор, Биотехнологија, 17.10.1998. године, Технолошки факултет, Нови Сад, ментор др Синиша Марков, ванредни професор, Технолошка микробиологија, реизбор 06.12.2007. године, Технолошки факултет, Нови Сад, члан др Ново Пржуљ, научни саветник, Оплемењивање биљака, 18.09.2001. године, Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад, члан
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
1. Име, име једног родитеља, презиме: Јелена (Душан) Пејин
2. Датум рођења, општина, република: 01.04.1975. године, Нови Сад, Србија
3. Датум одбране, место и назив магистарске тезе: 22.12.2003. године, Технолошки факултет, Нови Сад „Утицај температуре ферментације и састава сладовине на садржај диацетила и 2,3-пентандиона у пиву“
4. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: Прехрамбено-биотехнолошке науке
III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:
„ИСПИТИВАЊЕ САДРЖАЈА И АНТИОКСИДАТИВНЕ АКТИВНОСТИ ФЕНОЛНИХ КИСЕЛИНА У ТОКУ ПРОИЗВОДЊЕ СЛАДА И ПИВА“
IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ: Навести кратак садржај са назнаком броја страна поглавља, слика, шема, графикона и сл.
Докторска дисертација садржи 7 поглавља: 1. УВОД (од 1 до 6 стране, 1 слика); 2. ОПШТИ ДЕО (од 7 до 62 стране, 11 слика и 32 табеле); 3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ РАДА (од 63 до 71 стране, 1 табела); 4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА (од 72 до 114 стране, 37 слика и 26 табела);

5. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ДОБИЈЕНИХ РЕЗУЛТАТА (од 115 до 162 стране, 48 слика и 23 табеле);

6. ЗАКЉУЧЦИ (од 163 до 165 стране) и

7. ЛИТЕРАТУРА (од 166 до 181 стране).

Докторска дисертација је написана на 181 страни А4 формата са 85 оригиналних слика и 50 табела. Цитирано је 241 литературних навода и дата је и кључна документација са изводом на српском и енглеском језику.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У УВОДУ докторске дисертације мр Јелена Пејин наводи да је пиво једно од најчешће конзумираних алкохолних пића у свету. Богато је хранљивим састојцима, угљеним хидратима, аминокиселинама, минералима, витаминима и фенолним једињењима. За производњу пива су потребне четири сировине и то: јечам односно слад, хмељ, вода и квасац. Квалитет свих сировина има одлучујући утицај, чак често пресудан, на квалитет готовог производа-пива. Оксидационе реакције које се одвијају у току производње слада и пива укључују настајање и трансформацију великог броја слободних радикала. Током последњих година фенолна једињења су привукла пажњу научника који се баве храном и медицином због њихових антиоксидативних, антиинфламаторних, антимулагених и антиканцерогених особина и њихових способности да мењају неке кључне функције ћелијских ензима. Највећи део фенолних једињења и фенолних киселина у пиву потиче из јечменог слада (70-80%), а остатак из хмеља и несладованих сировина. Фенолна једињења испољавају антиоксидативну, односно антирадикалску активност на следеће начине: предајом Н-атома, директним везивањем („хватањем“) реактивних кисеоникових и азотових радикала, хелирањем прооксидативних металних јона (Fe, Cu) и инхибицијом прооксидативних ензима. Досадашња испитивања су показала да и пиво поседује антиоксидативну активност. С обзиром да су фенолна једињења веома важни антиоксиданти, њихово одређивање је битно да би се утврдило како се њихов садржај мења током процеса производње слада и пива и које фенолне киселине из јечма, односно слада и хмеља доспевају у готово пиво. Избором одговарајуће сорте јечма и параметара процеса сладовања може се произвести слад високе антиоксидативне активности без примене егзогенних антиоксиданта. Ако се произведе слад више антиоксидативне активности добиће се и пиво више антиоксидативне активности, што повољно утиче на стабилност укуса. У доступној литератури нису пронађени подаци о истраживањима садржаја укупних фенола, фенолних киселина и антиоксидативне активности током целокупног процеса производње слада и пива.

Циљ истраживања докторске дисертације је био да се у конитнутету испита садржај укупних фенола, фенолних киселина и антиоксидативна активност (антирадикалска активност на DPPH и хидроксил радикале) у току производње слада и пива (у јечму, намоченом јечму, зеленом сладу, сладу, сладовини, охмеленој сладовини, сладовини током ферментација, младом пиву и пиву) произведених од три признате сорте пивског јечма: NS 525, NS 565 и NS 583. Први задатак докторске дисертације био је да се уради оптимизација методе за одређивање садржаја фенолних киселина. Оптимизација GC-MS методе за одређивање садржаја фенолних киселина током свих фаза процеса производње слада, сладовине и пива обухватила је дефинисање услова хидролизе (ослобађања фенолних киселина из везаног облика) и одређивања њиховог садржаја GC-MS методом. Други задатак је био технолошка оцена наведених сорти јечма и анализа садржаја укупних фенола и фенолних киселина, као и одређивање антирадикалске активности на стабилне DPPH и реактивне хидроксил радикале. Трећи задатак ове докторске дисертације је производња слада из наведених сорти јечма што је обухватало микросладовање наведених сорти јечма. Микросладовање је укључивало мочеење јечма, клијање и сушење зеленог слада. Током процеса мочеења праћен је степен намочености јечма. У току микросладовања праћени су укупни губици тј. губици на дисање и клицу. Такође, у свим фазама микросладовања одређивани су садржаји укупних фенола, фенолних киселина и антирадикалска активност на DPPH и хидроксил радикале. Четврти задатак докторске дисертације био је анализа произведених сладова која је обухватала одређивање технолошких показатеља и садржаја укупних фенола, фенолних киселина и антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале. У хмељу је одређен садржај укупних смола, α -киселина, укупних фенола и фенолних киселина као и антирадикалска активност на DPPH и хидроксил радикале. Пети задатак био је производња сладовине, охмелене сладовине и ферментација. У произведеним сладовинама и охмеленим сладовинама урађена је технолошка

оцена квалитета, као и одређивање садржаја укупних фенола, фенолних киселина и антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале. Током главне и накнадне ферментације праћени су технолошки параметри, као и садржаји укупних фенола, фенолних киселина и антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале. У произведеним пивима урађена је технолошка оцена квалитета пива као и садржај укупних фенола, фенолних киселина и антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале. Статистичка обрада добијених резултата обухватила је моделовање садржаја укупних фенолних киселина током производње слада и пива. У циљу одређивања зависности садржаја укупних фенола и појединачних фенолних киселина и антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале урађена је корелациона анализа садржаја укупних фенола и појединачних фенолних киселина и антирадикалских активности на DPPH и хидроксил радикале у току производње слада и пива.

У ОПШТЕМ ДЕЛУ кандидаткиња систематски и детаљно описује сазнања о слободним радикалима, кисониковим реактивним врстама и антиоксидантима у технологијама слада и пива. Фенолна једињења и меланоидини су најзначајнији извори природних антиоксиданата у пиву. Полифенолна једињења присутна у пиву обухватају фенолне киселине (хидрокси деривате бензоеве и циметне киселине), кумарине, катехине, ди-, три- и олигомерне проантоцијанидине, халконе и флавоноиде, као и α - и *изо*- α -киселине пореклом из хмеља. Најзаступљенији хидрокси деривати бензоеве киселине су: *p*-хидроксibenзоева, ванилинска, гална, протокатехинска, синрингинска, гентистинска и елагинска киселина, које су присутне углавном у облику глукозида. Најзаступљенији хидрокси деривати циметне киселине су: *p*-кумаринска, кафена, ферулна и синапинска киселина које су често присутне у храни као естри са квинском киселином или глукозом. Најпознатији естар кафене и квинске киселине је хлорогенска киселина. Разна полифенолна једињења утичу на арому, боју, стабилност пене, физичку и хемијску стабилност, трајност и антиоксидативну активност пива.

У општем делу кандидаткиња такође исцрпно описује антиоксидативну активност полифенолних једињења у јечму, процесу сладовања, сладу, хмељу, сладовини, охмеленој сладовини, сладовини током ферментација и пиву. Поред тога, веома детаљно су описана полифенолна једињења у јечму, сладу, хмељу као и у финалном производу – пиву у току процеса производње слада и пива са посебним освртом на фенолне киселине. Полифенолна једињења присутна у јечму и сладу могу бити у слободном или везаном облику. Већина слободних полифенолних једињења су флавоноли, док фенолне киселине чине већину полифенолних једињења у везаном облику.

Кандидаткиња веома студиозно описује утицај технолошких параметара (рН вредности воде за мочење, одвођења угљен-диоксида током мочења, температуре сушења зеленог слада, температуре комљења, поступке комљења, рН вредности током комљења, густину комине, режим мешања, величину честица самлевоног слада, услове додавања хмеља у кључалу сладовину, сој квасца за ферментацију, количину инокулума и садржај раствореног кисеоника) на промене садржаја фенолних киселина и антиоксидативну активност током производње слада и пива. Опширно се наводе и услови промене укуса током старења пива, као и настајање мутноће пива. Мутноћу пива проузрокују полифенолна једињења и протеини.

Кандидаткиња је исцрпно обрадила и дала преглед метода за одређивање садржаја укупних фенола, фенолних киселина и антиоксидативне активности из доступне литературе. На основу наведене и проучене литературе кандидаткиња је била у могућности да детаљно анализира и тумачи добијене резултате своје докторске дисертације као и да их упореди са резултатима других аутора.

У поглављу МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ РАДА мр Јелена Пејин наводи које су сорте јечма и хмеља коришћене за производњу слада и пива, као и хемикалије и прибор коришћени у изради докторске дисертације. Испитиване су три признате сорте озимог дворедог пивског јечма: NS 525, NS 565 и NS 583 пореклом из Института за ратарство и повртарство, Нови Сад. Сорте NS 525 и NS 565 су признате пиварске сорте јечма у Србији и Европској Унији, док је сорта NS 583 призната пиварска сорта јечма у Србији. За добијање охмелене сладовине коришћен је хмељ, сорта Арома, пореклом из Института за ратарство и повртарство, Департамента за хмељ, сирак и лековито биље, Бачки Петровац. Кандидаткиња јасно и детаљно описује поступак микросладовања, анализе јечма, слада, хмеља, сладовина, охмелених сладовина, сладовина током ферментација и пива. Поред тога описане су припреме сладовина и инокулума за ферментације као и услови под којима су извођене ферментације. Кандидаткиња је одређивала технолошке показатеље квалитета јечма, слада, хмеља,

сладовина, охмелених сладовина, сладовина током ферментација и пива по стандардним савременим европским методама анализа. Описано је одређивање садржаја укупних фенола, садржаја фенолних киселина (*p*-хидроксибензоеве, ванилинске, гентистинске, протокатехинске, сиригинске, *p*-кумаринске, галне, ферулне, кафене, синапинске, хлорогенске и елагинске) и антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале у јечму, намоченом јечму, зеленом сладу, сладу, сладовини, хмељу, охмеленој сладовини, сладовини током ферментација, младом пиву и пиву. Припрема узорака обухватала је комплексну хидролизу и екстракцију фенолних једињења. Одређивање садржаја укупних фенола у добијеним екстрактима изведено је методом по Folin-Ciocalteu. Одређивање садржаја фенолних киселина GC-MS методом у екстрактима обухватало је припрему узорака за GC-MS, припрему стандарда за калибрацију фенолних киселина, услове анализе и рада гасног хроматографа са масено-селективним детектором, идентификацију и квантификацију фенолних киселина. ESR анализа екстракта обухватала је одређивање антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале. У овом поглављу дата је детаљна припрема узорака за ESR анализу антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале као и услове снимања спектра на ESR спектрометру Bruker 300E. Статистичка обрада добијених резултата урађена је уз примену компјутерских програма Microsoft Excel и Statistica 4.5.

Кандидаткиња је оптимизовала методу (хидролизе узорака) у циљу одређивања садржаја фенолних киселина у току производње слада и пива. Ова оптимизација захтевала је детаљно проучавање литературе и добро познавање природе и састава сировина, међупроизвода и производа у технологијама слада и пива. За одређивање садржаја појединачних фенолних киселина у екстрактима јечма, намоченог јечма, зеленог слада, слада, сладовине, охмелене сладовине, сладовине током ферментација, младог пива и пива, кандидаткиња је примењивала GC-MS методу што је обухватало хидролизу узорака, екстракцију фенолних једињења, упаравање растварача, дериватизацију и квантификацију испитиваних фенолних киселина. Претходно је било неопходно да се уради калибрација испитиваних фенолних киселина помоћу стандардних раствора. Примењена GC-MS метода за одређивање садржаја фенолних киселина и ESR анализа антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале су најсавременије методе.

У поглављу РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА дати су резултати наведених истраживања као и дискусија добијених резултата. Резултати и дискусија добијених резултата обухватали су резултате: анализа јечма; микросладовања јечма; анализа слада; садржаја укупних фенола у јечму, намоченом јечму, зеленом сладу и сладу; садржаја фенолних киселина у јечму, намоченом јечму, зеленом сладу и сладу; антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале у јечму, намоченом јечму, зеленом сладу и сладу; анализе хмеља, технолошких параметара сладовина; технолошких параметара охмелених сладовина за ферментацију; параметара током ферментација и добијених пива; садржаја укупних фенола у сладовинама, охмеленим сладовинама, сладовинама током ферментација, младим пивима и пивима; садржаја фенолних киселина у сладовинама, охмеленим сладовинама, сладовинама током ферментација, младим пивима и пивима и антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале у сладовинама, охмеленим сладовинама, сладовинама током ферментација, младим пивима и пивима.

Сензорна оцена, механичке, физиолошке и хемијске анализе испитиваних сорти јечма су показале да су изабране сорте одличног квалитета. На основу резултата испитиваних параметара анализа слада закључено је да су произведени сладови добро разграђени (на основу времена ошећерења, разлике екстракта, вискозности и Kolbach-овог броја). Садржај укупних фенола у узорцима јечма су били 0,76, 0,75 и 0,70 mg GAE/g суве материје за NS 525, NS 565 и NS 583. Сви произведени сладови су садржали више укупних фенола у односу на јечам из којег су произведени. Сорту NS 525 је имала највиши садржај укупних фенола током свих фаза сладовања, док су сорте NS 565 и NS 583 имале ниже садржаје укупних фенола.

Резултати оптимизације методе за одређивање садржаја фенолних киселина GC-MS методом у току производње слада и пива обухватали су параметре детекције испитиваних фенолних киселина (ретенциона времена и карактеристичне јоне присутне у масеним спектрима силираних (TMC) деривата у стандардним растворима и добијеним екстрактима), масене спектре триметилсилил (TMC) деривата испитиваних фенолних киселина, аналитичке параметре GC-MS (SIM) методе (кофицијенти детерминације, лимити детекције и лимити квантификације испитиваних фенолних киселина) и резултате калибрације за испитиване фенолне киселине.

У свим испитиваним сортама јечма ферулна, *p*-кумаринска и ванилинска киселина су биле доминантне у узорцима јечма, током сладовања и у произведеном сладу. Током мочања и на

почетку клијања, садржаји испитиваних фенолних киселина, у свим узорцима јечма су се повисили. Пораст садржаја одређен је код свих испитиваних фенолних киселина. Садржај укупних фенолних киселина у јечму је износио за сорту NS 525 - 200,98; NS 565 - 184,10 и за NS 583 – 177,27 $\mu\text{g/g}$ суве материје. Садржај укупних фенолних киселина је растао код свих испитиваних сорти током мочења и достигао максимум у току првог дана клијања за NS 525 – 548,31; NS 565 – 518,65 и NS 583 – 517,17 $\mu\text{g/g}$ суве материје. Добијени резултати су показали да је процес сладовања имао значајан утицај на садржај појединачних и укупних фенолних киселина. Повишени садржаји фенолних киселина могу се објаснити разградњом сложених једињења за које су фенолне киселине везане (услед деловања амилаза, протеаза и β -глюканаза) и бољом екстракцијом.

Сорта NS 525 је имала највишу антирадикалску активност на DPPH радикале. За испитиване сорте јечма, антирадикалска активност на DPPH радикале се повисила значајно током мочења. Првог дана клијања, антирадикалска активност на DPPH радикале имала је даљи пораст. У произведеним сладовима антирадикалска активност на DPPH радикале била је виша него у јечму. Тренд пораста и смањење антирадикалске активности на DPPH радикале током сладовања је био исти за све испитиване сорте јечма.

Сорта NS 525 имала је највишу антирадикалску активност на хидроксил радикале. За испитиване сорте јечма антирадикалска активност на хидроксил радикале се знатно повисила током мочења. Првог дана клијања антирадикалска активност на хидроксил радикале је такође повећана. У произведеним сладовима је антирадикалска активност на хидроксил радикале била виша него у јечму.

Произведене сладовине су биле одговарајућег квалитета за производњу пива. Права и привидна преврелост имале су сличан ток код свих узорака сладовина. Права и привидна преврелост након 7 дана главне ферментације и 14 дана накнадне ферментације су имале приближне вредности код свих добијених пива. Одлични резултати праве и привидне преврелости показују да је број ћелија у инокулуму био довољан да се успешно изведу ферментације. Анализирајући резултате испитиваних параметара квалитета пива може се закључити да су садржаји етанола и екстракта у пиву у сагласности са садржајима екстракта у основним сладовинама.

Садржаји укупних фенола у сладовинама су износили 0,32 за NS 525, 0,31 за NS 565 и 0,30 mg GAE/100 ml за NS 583. Током хмељења сладовина садржај укупних фенола се повећао и то: 1,38 за NS 525, 1,35 за NS 565 и 1,33 пута за NS 583. Током ферментација свих сладовина садржај укупних фенола се снижавао.

У свим произведеним сладовинама, охмељеним сладовинама и пивима, ферулна, *p*-кумаринска, ванилинска и синапинска киселина су имале највише садржаје. Највиши укупни садржај свих фенолних киселина је одређен у охмељеним сладовинама. Садржај укупних фенолних киселина је у свим произведеним пивима био нижи у односу на одговарајуће охмељене сладовине.

У сладовини произведеној од слада NS 525 је одређена највиша антирадикалска активност на DPPH радикале. У испитиваним сладовинама, након хмељења се знатно повисила антирадикалска активност на DPPH радикале. Антирадикалска активност на DPPH радикале се смањила током главне и накнадне ферментације. Сорта јечма је имала доминантан утицај на антирадикалску активност на DPPH радикале произведених пива.

У сладовини произведеној од слада NS 525 је одређена највиша антирадикалска активност на хидроксил радикале. У испитиваним сладовинама, након хмељења се знатно повисила антирадикалска активност на хидроксил радикале. Антирадикалска активност на хидроксил радикале се смањила током главне и накнадне ферментације. Пиво произведено од слада NS 525 је на крају ферментације имало знатно вишу антирадикалску активност на хидроксил радикале у поређењу са пивима произведеним од слада NS 565 и NS 583. Овај резултат упућује на закључак да сорта јечма има доминантан утицај на антирадикалску активност на хидроксил радикале произведеног пива.

Сви резултати су приказани јасно и прегледно. Дискусија добијених резултата је повезала резултате и показала да сорта јечма има највећи утицај на садржај фенолних киселина и антиоксидативну активност слада и пива. У сладовини произведеној од слада NS 525 са највишим садржајем укупних фенола, укупних фенолних киселина одређена је и највиша антирадикалска активност на DPPH и хидроксил радикале. Током производње пива садржај укупних фенола се

благо смањило, што указује да је процес производње имао утицаја на њихов садржај. Интересантно је да је смањење антирадикалске активности и на DPPH и на хидроксил радикале слично смањењу садржаја укупних фенола и укупних фенолних киселина током процеса производње пива.

Поглавље СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ДОБИЈЕНИХ РЕЗУЛТАТА обухватило је моделовање садржаја укупних фенолних киселина током производње слада и пива, корелациону анализу садржаја укупних фенола и антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале и корелациону анализа садржаја испитиваних фенолних киселина и антирадикалских активности на DPPH и хидроксил радикале у току производње слада и пива. Статистичка обрада добијених резултата је допринела доказивању зависности садржаја испитиваних фенолних киселина и антиоксидативне активности током производње слада и пива од три испитиване сорте јечма.

Кандидаткиња је показала комплетно теоријско знање за објашњење добијених резултата, а добијене зависности између појединих испитиваних параметара успешно је објаснила у духу савремене науке о производњи слада и пива и на крају је извела правилне и комплетне закључке. ЗАКЉУЧЦИ су правилно изведени на основу добијених резултата, дискусије и статистичке обраде резултата па се могу сматрати поузданим.

ЛИТЕРАТУРА у докторској дисертацији је цитирана на јасан и правилан начин. Избор литературних навода је актуелан због тога што је већина навода новијег датума.

VI Списак научних и стручних радова који су објављени или прихваћени за објављивање на основу резултата истраживања у оквиру рада на докторској дисертацији

M22 – Рад у истакнутом међународном часопису

1. Jelena Pejin, Olgica Grujić, Jasna Čanadanović-Brunet, Đura Vujić, Vesna Tumbas (2009) Investigation of phenolic acids content and antioxidant activity in malt production, Journal of the American Society of Brewing Chemists, 67 (2), 81-88, doi:10.1094/ASBCJ-2009-0220-01.

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Из резултата добијених у овом раду изведени су следећи закључци:

- ❖ Испитиване сорте јечма NS 525, NS 565 и NS 583 су према сензорној оцени, механичкој, физиолошкој и хемијској анализи оцењене као добре пиварске сорте јечма.
- ❖ Све испитиване сорте су током мочења примиле довољно влаге тј. степен намочености је био изнад 44,5% након трећег мочења. Укупни губици током сладовања испитивних сорти јечма су били ниски, односно испод 10,5%.
- ❖ На основу резултата испитиваних параметара може се закључити да су произведени сладови добро разграђени (време ошећерења, разлика екстракта, вискозност, Kolbach-ов број).
- ❖ Садржај укупних фенола у узорцима јечма је био: NS 525 - 0,76; NS 565 - 0,75 и NS 583 - 0,70 mg GAE/g суве материје. Током мочења садржај укупних фенола се повећао за 21,05%, 18,67% и 18,57% за NS 525, NS 565 и NS 583. У току првог дана клијања садржај укупних фенола се повисио за 7,61%, 8,99% и 13,58% за NS 525, NS 565 и NS 583. Током клијања, садржај укупних фенола се благо снизио у свим узорцима јечма. Садржај укупних фенола се повисио током сушења свих испитиваних сорти јечма за: 1,05%, 1,07% и 1,11% за NS 525, NS 565 и NS 583. Садржај укупних фенола у свим произведним сладовима (0,96; 0,94 и 0,91 mg GAE/g суве материје за NS 525; NS 565 и NS 583) је био виши од садржаја у јечму. Сорта NS 525 је имала највиши садржај укупних фенола током свих фаза сладовања, док су сорте NS 565 и NS 583 имале ниже садржаје укупних фенола. Најнижи садржај укупних фенола имала је сорта NS 583.
- ❖ У свим испитиваним сортама јечма ферулна, *p*-кумаринска и ванилинска киселина су биле доминантне у узорцима јечма, током сладовања и у произведеном сладу.
- ❖ Садржај укупних фенолних киселина у јечму је износио за сорту NS 525 - 200,98; NS 565 - 184,10 и за NS 583 - 177,27 $\mu\text{g/g}$ суве материје. Садржај укупних фенолних киселина је растао код свих испитиваних сорти током мочења и достигао максимум у току првог дана клијања за NS 525 - 548,31; NS 565 - 518,65 и NS 583 - 517,17 $\mu\text{g/g}$ суве материје што значи да је садржај повећан за 2,72 пута за сорту NS 525, 2,81 пута за сорту NS 565 и 2,92 пута за сорту NS 583. У наредним данима клијања садржај укупних фенолних киселина се смањивао. У току сушења се садржај укупних фенолних киселина незнатно повећао.
- ❖ Добијени резултати су показали да је процес сладовања имао значајан утицај на садржај

појединачних и укупних фенолних киселина. Повишени садржаји фенолних киселина могу се објаснити разградњом сложених једињења за које су фенолне киселине везане (услед деловања амилаза, протеаза и β -глюканаза) и бољом екстракцијом.

- ❖ Сорту NS 525 је имала највишу антирадикалску активност на DPPH радикале (EC_{50} за NS 525 - 0,658; NS 565 - 0,667 и NS 583 - 0,758 mg/ml) што показује да сорта јечма има утицаја на антирадикалску активност на DPPH радикале. За испитиване сорте јечма, антирадикалска активност на DPPH радикале се повисила значајно током мочења и то за сорту NS 525 - 56,32%, NS 565 - 40,00% и NS 583 - 26,67%. Првог дана клијања, антирадикалска активност на DPPH радикале имала је даљи пораст. Антирадикалска активност на DPPH радикале је смањења на крају клијања, а у току сушења зеленог слада антирадикалска активност на DPPH радикале се повећала. У произведеним сладовима антирадикалска активност на DPPH радикале била је виша него у јечму и то: за 62,00% за NS 525, 46,43% за NS 565 и 40,00% за NS 583. Тренд пораста и смањења антирадикалске активности на DPPH радикале током сладовања је био исти за све испитиване сорте јечма.
- ❖ Антирадикалска активност на хидроксил радикале, изражена као EC_{50} вредност, у испитиваним сортама јечма је износила: NS 525 - 0,352; NS 565 - 0,385 и NS 583 - 0,455 mg/ml. Може се закључити да је сорта NS 525 имала највишу антирадикалску активност на хидроксил радикале. Антирадикалска активност на хидроксил радикале се знатно повисила током мочења за 37,84% за NS 525, 33,33% за NS 565 и 31,25% за NS 583. Првог дана клијања антирадикалска активност на хидроксил радикале је повишена у односу на крај мочења. Антирадикалска активност на хидроксил радикале се на крају клијања смањила, а током сушења зеленог слада повећала. У произведеном сладу је антирадикалска активност на хидроксил радикале била виша него у јечму: 49,27% за NS 525, 38,10% за NS 565 и 37,14% за NS 583. Тренд пораста и смањења антирадикалске активности на хидроксил радикале током сладовања је био исти за све испитиване сорте јечма.
- ❖ Сорту NS 525 је имала највиши садржај укупних фенола као и највишу антиоксидативну активност тј. DPPH и хидроксил антирадикалску активност. Ови резултати показују да сорта јечма може да утиче на антирадикалске особине слада. Сорту NS 525 је имала највиши садржај укупних фенола, укупних фенолних киселина и највишу антирадикалску активност на DPPH и хидроксил радикале у току сладовања.
- ❖ Хмељ је садржао више укупних фенолних киселина, око 3 пута више протокатехинске и галне киселине и око 50 пута више хлорогенске киселине у поређењу са садржајима наведених фенолних киселина у сладовима. Садржај ферулне киселине у хмељу је био нижи за око 3,4-3,9 пута у односу на испитиване сладове.
- ❖ Процент екстрахованих укупних фенола био је уједначен код испитиваних сорти слада и износио је 3,96% за сорту NS 525, 3,91% за сорту NS 565 и 4,01% за сорту NS 583. На основу наведеног може се закључити да се само око 4% укупних фенола слада екстрахује у сладовину, а да остатак укупних фенола заостаје у тропу.
- ❖ Процент екстрахованих фенолних киселина из сладова у сладовине износио је око 10% за све испитиване узорке слада.
- ❖ У свим произведеним сладовинама, охмељеним сладовинама и пивима, ферулна, *p*-кумаринска, ванилинска и синапинска киселина су имале највише садржаје. Садржај свих испитиваних фенолних киселина је повишен након хмељења. Највиши укупни садржај фенолних киселина је одређен у охмељеним сладовинама (NS 525 - 461,41, NS 565 - 426,22 и NS 583 - 423,56 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$). Садржај укупних фенолних киселина је у свим произведеним пивима био нижи у односу на одговарајуће охмељене сладовине. Током свих ферментација садржаји *p*-кумаринске, ферулне, кафене, синапинске и хлорогенске киселине су се снижавали.
- ❖ У сладовини произведеној од слада NS 525 је одређена највиша антирадикалска активност на DPPH радикале, обзиром да нижа EC_{50} вредност показује вишу антирадикалску активност (EC_{50} за NS 525 - 0,433; NS 565 - 0,546 и NS 583 - 0,649 mg/ml) што указује да антирадикалска активност компоненти слада има утицаја на антирадикалску активност произведене сладовине. У испитиваним сладовинама, након хмељења се знатно повисила антирадикалска активност на DPPH радикале (EC_{50} за охмељену сладовину NS 525 - 0,223; NS 565 - 0,247 и NS 583 - 0,333 mg/ml). Антирадикалска активност на DPPH радикале се током хмељења повећала код NS 525 за 48,55%, NS 565 за 54,81% и NS 583 за 48,67%.

Антирадикалска активност на DPPH радикале се смањила током главне и накнадне ферментације.

- ❖ У сладовини произведеној од слада NS 525 је одређена највиша антирадикалска активност на хидроксил радикале (EC_{50} за сладовину NS 525 - 0,275; NS 565 - 0,345 и NS 583 - 0,397 mg/ml). У испитиваним сладовинама, након хмељења се знатно повисила антирадикалска активност на хидроксил радикале (EC_{50} за охмељену сладовину NS 525 - 0,182; NS 565 - 0,201 и NS 583 - 0,256 mg/ml). Антирадикалска активност на хидроксил радикале се током хмељења повећала код NS 525 за 34,00%, код NS 565 за 41,77% и код NS 583 за 35,55%. Антирадикалска активност на хидроксил радикале се смањила током главне и накнадне ферментације.
- ❖ У сладовини произведеној од слада NS 525 са највишим садржајем укупних фенола и највишим укупним садржајем фенолних киселина одређен су највише антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале. Током производње пива садржај укупних фенола се благо смањило, што указује да је процес производње имао утицаја на њихов садржај. Тренд смањења највише антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале одговара смањењу садржаја укупних фенола и укупних фенолних киселина током процеса производње пива.
- ❖ Примењена GC-MS метода за одређивање садржаја фенолних киселина током процеса производње слада и пива се показала као осетљива, специфична и добре поновљивости. Може се применити за одређивање садржаја фенолних киселина у јечму, намоченом јечму, зеленом сладу, сладу, сладовини, охмељеној сладовини, током ферментација и у пиву. Одређени садржаји фенолних киселина GC-MS методом су у сагласности са резултатима који се добијају применом HPLC метода.
- ❖ На основу добијених резултата за коефицијенте детерминације између садржаја фенолних киселина и антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале током процеса сладовања може се запазити да све испитиване фенолне киселине имају значајну антирадикалску активност на DPPH и хидроксил радикале.
- ❖ Код свих испитиваних сорти јечма највише коефицијенте детерминације садржаја фенолних киселина и антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале током сладовања имале су следеће фенолне киселине: хлорогенска, протокатехинска, гална, ванилинска, *p*-хидроксибензоева, ферулна, сиригинска и синапинска киселина.
- ❖ Применом диференцијалног корелационог модела све киселине су имале антирадикалску активност на DPPH и хидроксил радикале. Хлорогенска, кафена и синапинска киселина су имале највише коефицијенте детерминације садржаја и антирадикалске активности на DPPH и хидроксил радикале током производње пива код свих испитиваних узорака.
- ❖ Садржај укупних фенола, фенолних киселина и антиоксидативна активност сировина које се користи за производњу пива, имају значајан утицај на антиоксидативну активност пива. Познавање промена садржаја фенолних киселина и антиоксидативне активности током производње слада и пива може омогућити заштиту ендогенних антиоксиданата у производњи пива. На тај начин могу се производити пива са вишом антиоксидативном активношћу и према томе и повишеном отпорношћу према липидној оксидацији и старењу пива.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА
<p>Мр Јелена Пејин, дипломирани инжењер технологије, је са успехом и у потпуности извела истраживања која се предвиђена планом у пријави докторске дисертације. Добијени резултати су проистекли из бројних и оригиналних истраживања која су обухватила анализе испитиваних сорти јечма, производњу слада, анализу слада и хмеља, производњу сладовине и охмелјене сладовине, извођење ферментација, праћење технолошких параметара током ферментација и анализе произведених пива. У наведеним фазама одређивани су садржаји укупних фенола, фенолних киселина и антирадикалска активност на DPPH и хидорксил радикале. Добијени резултати истраживања су прегледно и јасно приказани и тумачени. Тумачење резултата проистекло је из доброг познавања науке и технологија слада и пива као и најновијих научних сазнања у овим технологијама. На основу наведеног може се закључити да се начин приказа и тумачења резултата испитивања оцењује позитивно.</p>
IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:
1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме?
Докторска дисертација је написана у потпуном складу са образложењем наведеним у пријави теме.
2. Да ли дисертација садржи све битне елементе?
Докторска дисертација садржи све битне елементе.
3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци
Докторска дисертација је оригинални допринос науци о технологији слада и пива јер је кандидаткиња одређивала садржај дванаест фенолних киселина и антирадикалску активност на DPPH и хидроксил радикале у свим фазама производње слада и пива произведених од три признате сорте јечма. Самом одређивању садржаја фенолних киселина GC-MS методом претходила је оптимизација методе која до сада није примењивана за матриксе из технологија слада и пива. Избором одговарајуће сорте јечма и параметара процеса сладовања може се произвести слад високе антиоксидативне активности без примене егзогених антиоксиданата. Садржај укупних фенола, фенолних киселина и антиоксидативна активност сировина које се користе за производњу пива, имају значајан утицај на антиоксидативну активност пива. Познавање промена садржаја фенолних киселина и антиоксидативне активности током производње слада и пива може омогућити заштиту ендогених антиоксиданата у производњи пива. На тај начин могу се производити пива са вишом антиоксидативном активношћу.
4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања
Докторска дисертација нема недостатака.
X ПРЕДЛОГ:
Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију мр Јелене Пејин, дипломираног инжењера технологије, под насловом: „ИСПИТИВАЊЕ САДРЖАЈА И АНТИОКСИДАТИВНЕ АКТИВНОСТИ ФЕНОЛНИХ КИСЕЛИНА У ТОКУ ПРОИЗВОДЊЕ СЛАДА И ПИВА“ и са задовољством предлаже да се прихвати, а мр Јелени Пејин одобри одбрана докторске дисертације.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

У Новом Саду, 10.04.2009. године