

# **NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU HEMIJSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Nastavno-naučnog veća, Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu održanoj 11. oktobra 2012. godine izabrani smo za članove Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata mr Aleksandra Ž. KOSTIĆA, dipl. hemičara, asistenta na Katedri za hemiju i biohemiju, Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, pod naslovom: “ANALIZA HEMIJSKIH I NUTRITIVNIH KARAKTERISTIKA POLENA KOJI SU MEDONOSNE PČELE SAKUPILE U RAZLIČITIM REGIONIMA SRBIJE”. Na osnovu pregledane disertacije, podnosimo sledeći:

## **I Z V E Š T A J**

### **A. PRIKAZ SADRŽAJA DOKTORSKE DISERTACIJE**

Doktorska disertacija Aleksandra Ž. Kostića sadrži 183 stranu teksta sa 12 slika i 30 tabela i čine je: Uvod (2 strane), Opšti deo (71), Eksperimentalni deo (12), Rezultati i diskusija (65), Zaključci (8) i Literatura (19) sa 250 navoda. Doktorat ima Sadržaj, Izvod, Abstract, Spisak skraćenica i Biografiju autora.

U **Uvodu** autor ukratko daje pregled istorijske primene polena u ljudskoj ishrani i ističe njegova izuzetna hranljiva svojstva. Naglašava se i značaj utvrđivanja fizičko-hemijskih, nutritivnih i tehno-funkcionalnih osobina polena koji su sakupile medonosne pčele kako bi se detaljno utvrdila mogućnost njegove primene kao funkcionalne hrane. Kandidat u ovom delu ističe i cilj rada kao i činjenicu da je ovo prvo naučno istraživanje u Srbiji u kome su detaljno ispitana sva navedena svojstva polena koji su sakupile

medonosne pčele. Navodi se i važnost ispitivanja mikrobiološke ispravnosti uzoraka (određivanjem prisustva plesni i aflatoksina B1) kao i ukupne antioksidativnosti u cilju dobijanja bezbednog i funkcionalnog proizvoda.

U **Opštem delu** prikazuje kratak osvrt na proces razmnožavanja biljaka i ulogu medonosne pčele u oprašivanju (polinaciji) velikog broja biljnih vrsta na našim prostorima. Autor navodi osnovne podatke o razvoju, građi i osobinama cvetnog polena i prikazuje detaljne podatke dostupne u literaturi o botaničkom (palinološkom) poreklu uzoraka polena koji su sakupile medonosne pčele a koji su do sada ispitani širom sveta. Autor je naveo najnovije podatke o ispitivanju fizičko-hemijskih osobina polena koji su sakupile medonosne pčele u smislu većeg broja ispitivanih parametara: sadržaja vlage, aktivnosti vode, pH- vrednosti, sadržaja aminokiselina i proteina, sadržaja šećera i dijetalnih vlakana, sadržaja lipidnih materija, sadržaja makro- i mikroelemenata, sadržaja fenola i vitamina. Takođe, prikazan je pregled literaturnih podataka o određivanju antioksidativnih osobina polena medonosnih pčela kao i pregled podataka o ispitivanju mikrobiološke ispravnosti uzoraka polena. Na kraju, autor daje i kratak pregled najvažnijih tehno-funkcionalnih osobina i njihov značaj za kvalitet prehrambenih proizvoda sa najvažnijim literaturnim navodima koji pokazuju važnost ispitivanja ovih svojstava polena koji su sakupile medonosne pčele.

**Eksperimentalni deo** sadrži podatke o geografskom poreklu uzoraka polena sa odgovarajućom geografskom kartom Srbije, postupak koji je primenjen za određivanje palinološkog (botaničkog) porekla uzoraka polena, kao i sve laboratorijske metode koje su upotrebljene u doktoratu.

U delu doktorske disertacije **Rezultati i diskusija**, kandidat daje pregled i diskusiju dobijenih rezultata. Detaljno su prikazani i analizirani rezultati analize palinološkog porekla uzoraka polena koji su sakupile medonosne pčele. Detaljno su prikazani rezultati analize fizičko-hemijskog sastava uzoraka polena u smislu: sadržaja vlage i pepela, sadržaja makro i mikroelemenata, sadržaja proteina, sadržaja ukupnih i rastvorljivih ugljenih hidrata, sadržaja ukupnih lipida i pojedinačnih masnih kiselina, sadržaja ukupnih i pojedinačnih polifenolnih jedinjenja. Takođe, prikazani su rezultati

SDS-PAGE analize sadržaja rastvorljivih proteina, energetska vrednost uzoraka polena kao i korelaciona analiza nutritivnih parametara. Prikazana je i ukupna antioksidativnost uzoraka polena. Prikazani su i rezultati dobijeni za ispitivana tehno-funkcionalna svojstva polena: emulgujuća i peniva svojstva, kapacitet vezivanja vode (WAC), kapacitet vezivanja ulja (OAC) kao i za odnos ova dva parametra (WOAI). Na kraju, prikazani su rezultati analize pH- vrednosti ispitivanih uzoraka polena, aktivnosti vode ( $a_w$ ) i rezultati ispitivanja prisustva plesni i aflatoksina B1 u uzorcima polena.

**Zaključcima**, kandidat sumira dobijene rezultate i njihovu diskusiju.

## **B. KRATKI OPIS POSTIGNUTIH REZULTATA**

- Na osnovu palinološkog porekla ispitivanih uzoraka polena može se zaključiti da ih je većina bila polifloralnog porekla izuzev tri ispitivana uzorka koji se mogu okarakterisati kao monofloralni, jer sadrže više od 80% polenovih zrna jedne biljne familije ili vrste – uzorak br. **2** (93% polena kupusnjača, Brassicaceae), uzorak br. **6** (81% polena vrbe, *Salix*) i uzorak br. **14** (81% polena mahunarki, Fabaceae). Nije bilo moguće utvrditi povezanost palinološkog porekla polena sa njegovim geografskim poreklom s obzirom da je u skoro svim uzorcima polen kupusnjača i mahunarki identifikovan u manjem ili većem procentu. Ovo je bilo očekivano s obzirom na zastupljenost vrsta iz ove dve familije u svim delovima i regionima Srbije.
- Na osnovu rezultata dobijenih za sadržaj vlage u ispitivanim uzorcima polena (4,35 – 14,35 g/100g) može se zaključiti da je u velikoj većini uzoraka ovaj parametar bio iznad gornje granice dozvoljene po zakonskoj regulativi (8 g/100g). To može biti posledica bilo neadekvatnih uslova čuvanja i skladištenja uzoraka bilo nedovoljnog sušenja. Neophodno je sadržaj vlage svesti na granicu od oko 6% kako bi se sprečila pojava i razvoj mikroba koji bi ugrozili ispravnost polena koji su sakupile medonosne pčele.

- na osnovu sadržaja pepela (1,18 – 3,32 g/100g) ispitivani uzorci su bili na ili ispod donje granice dozvoljenih vrednosti za sadržaj pepela u polenu (2 -6 g/100g).
- Na osnovu rezultata dobijenih za sadržaj makro- i mikroelemenata, kao tri najzastupljenija elementa su se izdvojili kalijum, kalcijum i magnezijum, što je bilo u skladu sa rezultatima većine istraživača. Ono što se razlikovalo jeste količinska zastupljenost pojedinih elemenata što potvrđuje tezu da geografsko poreklo, pre svega kroz sastav okolnog zemljišta, ima veliki uticaj na sadržaj minerala u polenima. Osim toga, utvrđena je i povezanost sadržaja određenih makroelemenata sa botaničkim poreklom uzoraka. Tako je zapaženo da se uzorci koji su dominantno sadržavali polen kupusnjača i mahunarki mogu okarakterisati kao bogati magnezijumom, dok je za uzorke bogate polenom suncokreta bilo karakteristično da su sadržavali najmanje količine kalijuma i magnezijuma. Uzorci koji su dominantno sadržavali polen mahunarki bili su bogati i po sadržaju kalcijuma, dok se uzorci bogati polenima suncokreta i japanskog bagrema mogu okarakterisati kao siromašni natrijumom. Uočeno je i da su ispitivani uzorci polena sadržavali gvožđe i cink u značajnim količinama. Kako su ova dva elementa važna sa nutritivnog aspekta utvrđeno je da bi korišćenjem ispitivanog polena koji su sakupile medonosne pčele kao dodatka ishrani odrastao čovek mogao da podmiri 30% dnevnih potreba za unosom gvožđa, odnosno, 15% količine cinka koja mu je neophodna. Prisustvo aluminijuma, kao potencijalno toksičnog elementa, u granicama iznad dozvoljenih (100 mg/100g) je utvrđeno samo u dva ispitivana uzorka pri čemu su oba vodila poreklo iz Beograda. Na osnovu toga je zaključeno da je povišena koncentracija ovog elementa u tim slučajevima posledica uticaja antropogenog faktora.
- Na osnovu ispitivanja sadržaja mikroelemenata utvrđeno je da je najzastupljeniji bio bakar. Po prvi put u uzorcima polena koji su sakupile medonosne pčele

identifikovan je i stroncijum. Na osnovu sadržaja toksičnih metala (Cr, Cd, Co) utvrđeno je da su prisutni samo u tragovima.

- Prosečan sadržaj proteina u ispitivanim uzorcima polena je iznosio 19,44 g/100g što je bilo u skladu sa najvećim brojem prethodnih istraživanja. Poređenjem botaničkog porekla uzoraka sa sadržajem proteina utvrđeno je da se poleni kupusnjača mogu okarakterisati kao najbogatiji po sadržaju proteina dok se, sa druge strane, poleni suncokreta i japanskog bagrema mogu okarakterisati kao poleni sa niskim sadržajem proteina. Moguće je da i način uzgajanja biljaka utiče na sadržaj proteina u njima.
- Na osnovu prosečne vrednosti za rastvorljivost proteina (11,22 g/100g) može se zaključiti da je polen koji su sakupile medonosne pčele sličan proizvodima od soje sa niskom rastvorljivošću proteina. Ovo se može dovesti u vezu sa kompleksnim hemijskim sastavom polena, sa složenom strukturom samih molekula proteina, njihovom konformacijom, kao i sa mogućim interakcijama koje oni mogu da ostvare u polenu sa drugim komponentama prisutnim u njemu (šećerima, lipidima, metalima).
- Na osnovu rezultata SDS-PAGE analize jasno se mogu uočiti tri frakcije proteina i to: proteini sa molekulskim masama od 80 kDa do 50 kDa, proteini sa molekulskim masama od 50 kDa do 25 kDa i proteini sa molekulskim masama od 25 kDa do 10kDa. Svi ispitivani uzorci polena (izuzev uzorka br. **1**) su kao dve glavne trake proteina sadržavali trake sa molekulskim masama od 77 kDa tj. 59 kDa što je ukazivalo na sličnost u sastavu rastvorljivih proteina u ispitivanim uzorcima polena. Sličnost u pogledu sastava rastvorljivih proteina u ispitivanim uzorcima polena može se dovesti i u vezu sa enzimama koje pčele luče prilikom prikupljanja polena (amilaze, katalaze serin i cistein-proteinaze). Jedan od ispitivanih uzoraka (br. **17**) može se okarakterisati kao uzorak bogat proteinima niskih molekulskih masa.

- Na osnovu prosečnog sadržaja ugljenih hidrata (75,51 g/100g) u ispitivanim uzorcima može se zaključiti da se radi o najzastupljenijoj frakciji u polenima koja će, u skladu sa time, imati i veliki uticaj na nutritivne karakteristike i energetska vrednost ispitivanih uzoraka polena. Poređenjem sa podacima u literaturi samo jedan uzorak bi se mogao okarakterisati kao siromašan (sadržavao manje od 65 g/100g), trinaest uzoraka je bilo izuzetno bogato ukupnim ugljenim hidratima (od 75 do 80 g/100g) dok tri uzorka prevazilaze gornju granicu od 80 g/100g ukupnih šećera.
- Na osnovu sadržaja rastvorljivih ugljenih hidrata zaključeno je da je u dvadeset tri uzorka najzastupljeniji šećer bila fruktoza, sa prosečnim sadržajem od 23,92 g/100g. U tri uzorka najzastupljeniji šećer je bila maltoza (prosečan sadržaj od 12,27 g/100g) dok su u jednom uzorku u podjednakim količinama pronađene fruktoza i maltoza. Preostala tri rastvorljiva ugljena hidrata koja su identifikovana, glukoza, saharoza i trehaloza, bili su prisutni u uzorcima u manjim količinama. Rezultati dobijeni u ovoj disertaciji se razlikuju od literaturnih pre svega po tome što je sadržaj saharoze u uzorcima polena bio znatno niži od podataka dostupnih u literaturi. Osim toga, kod većine uzoraka rastvorljivost ugljenih hidrata je bila nešto viša od ukupnog sadržaja rastvorljivih ugljenih hidrata koji su ispitani i identifikovani, što ukazuje da su u uzorcima, najverovatnije, bili prisutni i još neki rastvorljivi ugljeni hidrati koji nisu bili obuhvaćeni ispitivanjem i to pre svega skrob i pektini.
- Na osnovu dobijenih rezultata za ukupne sadržaje lipida (1,31 - 6,78 g/100g) može se zaključiti da su bili u saglasnosti sa većinom prethodnih istraživanja. Poređenjem sadržaja ukupnih lipida sa palinološkim poreklom uzoraka zaključeno je da su uzorci koji su bili bogati polenom kupusnjača imali i najviše sadržaje lipida. Sa druge strane, uzorci polena koji su vodili poreklo od mahunarki mogli su se okarakterisati kao uzorci sa niskim sadržajem lipidnih materija. Do sličnog zaključka se može doći i za polen japanskog bagrema.

- Na osnovu analize sadržaja pojedinačnih masnih kiselina utvrđeno je da su u svim ispitivanim uzorcima polena prisutne sledeće masne kiseline: kaprilna (C8:0), palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0), oleinska (C18:1n-9) i linolenska (C18:3n-3). Od preostalih dvadeset masnih kiselina za šest se može reći da su značajno zastupljene u većini uzoraka - laurinska (C12:0), miristinska (C14:0), pentadekanoinska (C15:0), margarinska (C17:0), arahidska (C20:0) i behenska kiselina (C22:0). Sa druge strane, za šest masnih kiselina se može reći da su “retke” i neuobičajene, jer su se javljale u svega nekoliko ispitivanih uzoraka: palmitoleinska (C16:1),  $\gamma$ -linolenska (C18:3n-6), eikozanska (C20:1), eikozatrienska (C20:3n-3), dihomo- $\gamma$ -linolenska (C20:3n-6) i lignocerinska (C24:0), dok dve nisu pronađene ni u jednom od uzoraka: dokozopentanoinska (C20:5n-3) i dokozoheksanoinska kiselina (C22:6n-3). Prisustvo “retkih” masnih kiselina može se, u nekim slučajevima, dovesti u vezu sa palinološkim poreklom ispitivanih uzoraka polena i poslužiti kao parametar hemotaksonomije. U tom smislu, prisustvo  $\gamma$ -linolenske kiseline u jednom od ispitivanih uzoraka, može se povezati sa prisustvom polena biljaka iz familije Brassicaceae. Prisustvo eikozadienske kiseline u jednom od ispitivanih uzoraka moguće je povezati sa prisustvom polena biljaka iz familije ljutića (Ranunculaceae) kao i sa polenom kukuruza (*Zea mays*). Prisustvo gadoleinske kiseline (C20:1) u nekoliko ispitivanih uzoraka može se povezati sa prisustvom polena biljaka iz familija mahunarki, kupusnjača, ljutića ili konoplje (Cannabaceae). Prisustvo palmitoleinske (C16:1) kiseline u dva ispitivana uzorka polena može se povezati sa prisustvom polena kukuruza u njima, za koji je dokazano da sadrži ovu retku masnu kiselinu, ili sa polenom biljaka iz familije ljutića.
- Na osnovu rezultata odnosa sadržaja nezasićenih i zasićenih masnih kiselina može se zaključiti da je samo u jednom uzorku ovaj odnos bio veći od 1, što je vrednost poželjna sa nutritivnog aspekta. Snižene vrednosti ovog odnosa, a samim time i hranljiva vrednost polena, može se dovesti u vezu kako sa samim poreklom polena tako i sa neodgovarajućim uslovima njegove prerade i čuvanja.

- Na osnovu rezultata dobijenih za energetske vrednosti uzoraka polena (350,65 - 395,6 kcal/100g) može se zaključiti da su ispitivani uzorci polena zadovoljavajućeg energetskog kvaliteta, ali sa nedovoljno pravilnom raspodelom energetske vrednosti po komponentama s obzirom da sadrže niži sadržaj lipida i ugljenih hidrata i viši sadržaj proteina u odnosu na preporučene vrednosti.
- U okviru ove disertacije po prvi put su određena tehno-funkcionalna svojstva polena – emulgjuća svojstva, peniva svojstva, kapacitet vezivanja vode i ulja. Na osnovu rezultata dobijenih za ESI (19,6 - 49,3 min) i EAI (10,4 - 24,5 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) parametre može se zaključiti da polen koji su sakupile medonosne pčele ima dobra emulgjuća svojstva koja su u rangu sa emulgjućim osobinama proteinskih proizvoda kao što su izolati graška, brašno više vrsta pasulja i sojino niskomasno brašno. Najveći doprinos stabilnosti emulzija daju proteini malih molekularnih masa jer se lakše adsorbuju na dodirnoj površini voda/ulje i na taj način stabilizuju emulziju. Osim proteina na stabilnost nagrađenih emulzija uticaj mogu da imaju i drugi molekuli prisutni u polenu kao što su polarni lipidi, skrob, pektin, joni kalijuma ili kalcijuma.
- Ispitivanje penivih osobina polena je pokazalo da uzorci ne poseduju ovo svojstvo, jer suspenzije koje su pravljene nisu uspele da formiraju održivu penu. Zbog toga se može zaključiti da polen koji su sakupile medonosne pčele poseduje anti-peniva svojstva.
- Na osnovu rezultata za WAC-parametar (0,92 - 2,25 g g<sup>-1</sup>) može se zaključiti da uzorci polena nisu pokazali visok kapacitet vezivanja vode. Glavna komponenta koja je mogla da utiče na vrednost ovog parametra su nerastvorljivi proteini, a osim njih i neki od polarnih lipidnih molekula.
- Na osnovu rezultata za OAC-parametar (1 - 3,53 g g<sup>-1</sup>) može se zaključiti da polen ima veću sposobnost vezivanja ulja od vode i da je kapacitet vezivanja ulja ispitivanih uzoraka polena bio veći u odnosu na vrednosti OAC parametra kod više vrsta brašna pasulja i sojinog brašna. Kao glavna komponenta koja bi



mogla da utiče na povećanu OAC vrednost izdvaja se sporopolenin, kao i drugi lipidni molekuli prisutni u “pollen-kitt” zoni ili proteini sa izraženim hidrofobnim zonama. Poređenjem vrednosti za ova dva parametra kroz WOAI-parametar može se zaključiti da su svi uzorci, izuzev jednog, imali vrednost ovog parametra nižu od 1. To ukazuje na činjenicu da je polen, pretežno, lipofilnog karaktera.

- Na osnovu rezultata analize sadržaja fenolnih jedinjenja u ispitivanim uzorcima polena može se zaključiti da su četiri bila prisutna u svim uzorcima. Najzastupljenije od svih jedinjenja je bio rutin sa značajnim razlikama u sadržaju (3,1 - 201,6 mg/100g) gledano po uzorcima što se delimično može dovesti u vezu sa njihovim palinološkim poreklom. Naime, može se zaključiti da su uzorci koji su u značajnijoj meri sadržavali polen kupusnjača bili bogatiji ovim glikozidom. Prisustvo preostala tri fenolna jedinjenja prisutna u svim uzorcima – galne kiseline (prosečni sadržaj 2,14 mg/100g), hlorogene kiseline (prosečni sadržaj 0,45 mg/100g) i luteolina (prosečni sadržaj 0,24 mg/100g) – nije bilo moguće dovesti u vezu sa određenim tipom polenovih zrna i njegovim palinološkim poreklom. Od preostalih fenolnih jedinjenja u većini je bila prisutna i elaginska kiselina (0,16 - 0,64 mg/100g) kao i galangin, hrizin (prosečan sadržaj 0,377 mg/100g) i kampferol (prosečan sadržaj 0,124 mg/100g) s tim što je galangin samo u jednom uzorku bio prisutan u značajnijoj količini. U tom smislu moguće je njegovo prisustvo, kao i prisustvo krisina, povezati sa polenom jasena koji je bio dominantno zastupljen tip polena u datom uzorku.
- Na osnovu vrednosti za ukupni sadržaj fenolnih jedinjenja (6,7 - 206,1 mg/100g) i poređenjem sa podacim dostupnim u literaturi, može se zaključiti da je većina uzoraka bila relativno siromašna polifenolima. Ovakvi rezultati bi se mogli dovesti u vezu ili sa uslovima čuvanja i skladištenja uzoraka, jer sa vremenom i porastom temperature sadržaj ovih jedinjenja opada, ili sa periodom godine kada su uzorci prikupljeni. Poređenjem botaničkog porekla ispitivanih uzoraka, uzorci bogatiji fenolnim jedinjenjima se mogu dovesti u vezu sa polenom biljaka iz familije kupusnjača dok bi na nizak sadržaj ovih jedinjenja uticaj mogao da ima

polen biljaka iz familije glavočika. Sa druge strane, nije bilo moguće utvrditi direktnu povezanost botaničkog porekla uzoraka sa ukupnim antioksidativnim kapacitetom kao ni povezanost sa geografskim poreklom ispitivanih uzoraka.

- Na osnovu vrednosti za aktivnost vode (prosečna vrednost 0,384) i pH- vrednost u uzorcima (4,01 - 5,82) može se zaključiti da su dobijene vrednosti u saglasnosti sa većim brojem ranijih istraživanja. Dobijene vrednosti za  $a_w$  su nešto više u odnosu na vrednost 0,3 koju određeni autori u literaturi preporučuju kao bezbednu za upotrebu polena u ljudskoj ishrani. S obzirom da je u većini uzoraka utvrđen i povišen sadržaj vlage, najverovatnije je uzrok povećanih vrednosti ova dva parametra neki od propusta prilikom prikupljanja ili čuvanja ispitivanih uzoraka od strane pčelara. U literaturi ne postoji potpuna saglasnost oko vrednosti za  $a_w$  i pH koje su potrebne za razvoj mikroorganizama. Zbog toga je neophodno dodatno ispitati i usaglasiti predložene vrednosti imajući u vidu i da su  $a_w$  i pH-vrednost samo neki od faktora koji mogu uticati na razvoj mikroorganizama.
- Većina pčelara u Srbiji tradicionalno obavlja sušenje uzoraka polena na otvorenom, u hladu, što bi trebalo izbegavati jer osim povišenog sadržaja vlage i  $a_w$ -vrednosti mnogo veći problem predstavlja potencijalni razvoj mikroba.
- Na osnovu rezultata analize prisustva plesni utvrđeno je da je deset od dvadeset šest ispitivanih uzoraka bilo kontaminirano jednim od šest rodova plesni (*Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Alternaria* sp., *Rhizopus* sp., *Fusarium* sp., *Trichoderma* sp.) pri čemu je prisustvo plesni iz roda *Trichoderma* po prvi put utvrđeno u polenu. Osim toga, u dva uzorka je izolovana plesan *Aspergillus flavus*. Poređenjem vrednosti brojnosti kolonija sa dostupnim, argentinskim, pravilnikom o mikrobiološkoj ispravnosti polena (u našem pravilniku nije definisana gornja granica dozvoljenog prisustva plesni) utvrđeno je da se za dva uzorka može reći da su imali povišenu kontaminaciju plesnima. Poređenjem botaničkog porekla uzoraka i prisustva plesni u njima nije bilo moguće utvrditi direktnu povezanost.

- Na osnovu rezultata mikotoksikološke analize utvrđeno je da su svi uzorci bili kontaminirani aflatoksinom B1 kao jednim od najopasnijih produkata metabolizma određenih vrsta plesni. Potrebno je naglasiti i da postepena promena klime na našem području čini sveukupnu hranu izloženijom i podložnijom dejstvu mikroba, a samim time i pojavom mikotoksina u njoj. Iako su dobijeni rezultati pokazali da je većina uzoraka polena bila sterilna i bez prisustva plesni, činjenica da je u svim uzorcima utvrđeno prisustvo aflatoksina B1 potvrđuje ispravnom pretpostavku iznetu u okviru ove disertacije da bi bilo neophodno, kao deo standardne mikrobiološke analize polena, uvesti i mikotoksikološku analizu uzoraka.

### **C. UPOREDNA ANALIZA REZULTATA KANDIDATA SA REZULTATIMA IZ LITERATURE**

Polen je izuzetno bogat različitim tipovima hranljivih materija (proteinima, lipidima, ugljenim hidratima, makro- i mikroelementima) kao i vitaminima i fenolnim jedinjenjima koja mogu pozitivno da utiču na zdravlje. Međutim, kako hemijski sastav polena koji su sakupile medonosne pčele u velikoj meri zavisi od njegovog palinološkog i geografskog porekla kao i od načina prikupljanja i uslova čuvanja i skladištenja veoma je važno utvrditi sve ove parametre. Kako u svetu sve više raste interes za konzumiranjem funkcionalne i zdravstveno bezbedne hrane potrebno je ispitati kakva tehno-funkcionalna svojstva poseduje i da li zadovoljava uslove mikrobiološke ispravnosti. Podaci do kojih je kandidat došao utvrđuju, po prvi put, detaljnu analizu palinoloških, fizičko-hemijskih, nutritivnih i tehno-funkcionalnih karakteristika uzoraka polena koji su sakupile medonosne pčele na području Srbije. Osim toga, kandidat iznosi i podatke o ukupnom antioksidativnom kapacitetu polena koji su sakupile medonosne pčele na području Srbije. Rezultati ispitivanja sadržaj plesni kao i prisustva aflatoksina B1 ukazali su na neophodnost uvođenja mikotoksikološke analize polena u Pravilnik o kvalitetu i drugim zahtevima za med i druge pčelinjih proizvoda.

Dobijeni rezultati pokazuju u kolikoj meri se sastav polena koji su pčele sakupile u različitim regionima Srbije razlikuje kao posledica razlika u palinološkom i

geografskom poreklu. Takođe, utvrđena je hranljiva vrednost i tehno-funkcionalna svojstva polena sakupljenog u Srbiji čime se bliže okarakterisala njegoova moguća primena u prehrambenim proizvodima što bi moglo značajno da doprinese postojećem trendu formiranja novih, kvalitetnijih prehrambenih proizvoda.

#### **D. OBJAVLJENI RADOVI I SAOPŠTENJA KOJA ČINE DEO DISERTACIJE**

##### **Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu (M<sub>21</sub>)**

1. **Kostić A Ž.**, Barać M. B., Stanojević S P., Milojković-Opsenica D M., Tešić Ž Lj., Šikoparija B., Radišić P., Prentović M., Pešić M B (2015): **Physicochemical properties and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia.** *LWT- Food Science and Technology*, 62(1): 301-309. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.031> (ISI IF<sub>2014</sub>=2,416, Food Science and Technology 24/122).

##### **Rad u međunarodnom časopisu (M<sub>23</sub>)**

2. **Kostić A Ž.**, Pešić M B., Mosić M D., Dojčinović B P., Natić M M., Trifković J Đ (2015) **Mineral content of some honey bee-collected pollen from Serbia,** *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology (Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju)*, in press (ISI IF<sub>2014</sub>=0,932, Public, Environmental & Occupational Health 184/245; Toxicology 78/87).

##### **Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M<sub>34</sub>)**

1. **Kostić A.**, Pešić M., Žilić S., Tešić Ž., Milojković – Opsenica D., Barać M., Stanojević S., Lačnjevac Č., Pantelić N (2013): **Total antioxidative capacity of some honey bee pollen collected in Serbia.** 8<sup>th</sup> International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries (ICOSECS8), Belgrade,

- Serbia, 27 -29 june 2013. Book of Abstracts, pp 252 (Web: <http://www.shd.org.rs/Icosecs8/>).
2. Milojković-Opsenica D., Mosić M., **Kostić A.**, Pešić M., Stanisavljević Lj., Trbović D., Tešić Ž. (2013): **Chemical and nutritonal characterization of honeybee-collected pollen from Serbia.** XXXXIII Apimondia International Apicultural Congress, Kyiv, Ukraine, 29.09 – 04.10.2013. Book of Abstracts, RD19 (Web: <http://apimondia2013.org.ua/en/>).
  3. **Kostić A.**, Pešić M., Mosić M., Natić M. (2014): **Content of Sugars, Phenolics and Minerals in some Serbian Bee-collected Pollen.** International Symposium on Bee Products - 3<sup>rd</sup> Edition(Annual meeting of the International Honey Commission), Opatija, Croatia, 28.09 – 01.10.2014. Book of Abstracts, AT-P-3.pp 91 (Web: [http://ihc2014opatija.da-riva.hr/en/conference\\_program/20/12](http://ihc2014opatija.da-riva.hr/en/conference_program/20/12)).
  4. **Kostić A.**, Petrović T., Tešić Ž., Milojković-Opsenica D., Barać M., Stanojević S., Pantelić N., Pešić M. (2014): **The presence of moulds in honey bee pollen collected in Serbia.** II International Congress, Food Technology, Quality and Safety, Novi Sad, Serbia, 28.10 – 30.10.2014. Book of Abstracts, pp. 95 (Web: <http://foodtech2014.uns.ac.rs/>).
  5. **Kostić A.**, Petrović T., Tešić Ž., Milojković-Opsenica D., Barać M., Stanojević S., Pantelić N., Pešić M. (2015): **The contamination of honey bee pollen collected in Serbia with Aflatoxin B1.** 26<sup>th</sup> International Scientific-Expert Conference of Agriculture and Food Industry, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, 27.09 – 30.09.2015. Book of Abstracts, pp. 80 (Web: [www.ppf.unsa.ba/agriconference2015.html](http://www.ppf.unsa.ba/agriconference2015.html))

## **E. ZAKLJUČAK**

U doktorskoj disertaciji mr Aleksandra Ž. KOSTIĆA, diplomiranog hemičara, proučavane su fizičko-hemijske i nutritivne karakteristike polena koji su sakupile medonosne pčele u različitim regionima Srbije, njegovo palinološko poreklo, najvažnija tehno-funkcionalna svojstva kao i mikrobiološka ispravnost i kontaminacija aflatoksinom B1.

Za ispitivanje palinološkog porekla uzoraka polena upotrebljena je klasična mikroskopska metoda uz korišćenje referentnih slajdova i atlasa za identifikaciju polenovih zrna. Za određivanje opšteg fizičko-hemijskog i nutritivnog sastava korišćene su savremene analitičke i biohemijske metode: standardne AOAC metode za određivanje sadržaja vlage, pepela, ukupnih lipida, proteina i ugljenih hidrata; SDS-PAGE elektroforetska metoda za određivanje sadržaja rastvorljivih proteina; sekvenciona ekstrakcija pomoću kojih su izolovane i razdvojene četiri različite frakcije polena (A, B, C i D) iz kojih je, zatim, izvršeno određivanje sadržaja masnih kiselina (GC hromatografijom), polifenolnih jedinjenja (UHPLC-MS/MS metodom) i rastvorljivih šećera (HPAEC/PAD metodom); ICP-OES metoda za određivanje sadržaja makro- i mikroelemenata; ABTS-metoda za određivanje ukupne antioksidativnosti polena; metode za određivanje emulgujućih i penivih svojstava ispitivanih uzoraka polena kao i metode za određivanje WAC i OAC vrednosti; metode za određivanje prisustva buđi i plesni i imunoenzimska (ELISA) metoda za određivanje sadržaja aflatoksina B1.

Kandidat je u doktorskoj disertaciji došao do rezultata i zaključaka koji predstavljaju značajan i originalan naučni doprinos u ispitivanju fizičko-hemijskih i nutritivnih osobina polena koji su medonosne pčele sakupile na području Srbije a u cilju njegove potencijalne primene kao dodatka ljudskoj ishrani. Po prvi put u naučnoj literaturi ispitana su i određena neka od najvažnijih tehno-funkcionalnih svojstava polena koja povećavaju mogućnost njegove primene kao funkcionalne hrane u budućnosti. Takođe, kolega Kostić je, utvrđivanjem kontaminacije polena medonosnih pčela aflatoksinom B1 ukazao na važnost uvođenja ove metode kao dela standardne mikrobiološke analize polena što, do sada, nije bio slučaj.

Iz ove doktorske disertacije publikovana su dva rada - jedan u vrhunskom međunarodnom časopisu ( $M_{21}$ ) koji je već dugi niz godina među vodećim u oblasti Food Science and Technology što ukazuje na aktuelnost problematike, a drugi u časopisu međunarodnog značaja ( $M_{23}$ ). Na oba rada kolega je prvi autor. Deo rezultata prezentovan je u četiri saopštenja na skupovima međunarodnog značaja ( $M_{34}$ ) koja su štampana u izvodu.

Na osnovu svega prikazanog, a u skladu sa Statutom Hemijskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, Komisija sa zadovoljstvom i uz punu podršku predlaže

Nastavno-naučnom veću da predatu doktorsku disertaciju kandidata mr Aleksandra Ž. KOSTIĆA, diplomiranog hemičara, pod naslovom: “ANALIZA HEMIJSKIH I NUTRITIVNIH KARAKTERISTIKA POLENA KOJI SU MEDONOSNE PČELE SAKUPILE U RAZLIČITIM REGIONIMA SRBIJE”, prihvati i odobri odbranu za sticanje akademskog zvanja DOKTORA HEMIJSKIH NAUKA.

K o m i s i j a

Dr Živoslav LJ. TEŠIĆ, redovni profesor  
Hemijski fakultet

Dr Dušanka M. MILOJKOVIĆ-OPSENICA, redovni profesor  
Hemijski fakultet

Dr Tanja D. ĆIRKOVIĆ-VELIČKOVIĆ, redovni profesor  
Hemijski fakultet

Dr Časlav M. LAČNJEVAC, redovni profesor  
Poljoprivredni fakultet

Dr Mirjana B. PEŠIĆ, docent  
Poljoprivredni fakultet

U Beogradu, 09 X. 2015.