

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

Датум: 21.04.2016. године

Предмет: Извештај Комисије за оцену урађене докторске дисертације Радована Ђорђевића, дипл.инж.

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду бр.33/7-4.10. од 30.03.2016. године, именовани смо у Комисију за оцену и одбрану урађене докторске дисертације под насловом: «**Утицај начина винификације на антиоксидативни капацитет воћних вина**», кандидата Радована Ђорђевића, дипл. инж., па пошто смо проучили завршену докторску дисертацију, подносимо следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација Радована Ђорђевића написана је у складу са Упутством за обликовање штампане и електронске верзије докторске дисертације Универзитета у Београду, на 172 стране куцаног текста, са укупно 51 графикона, 22 табеле, 19 слика и три прилога. Испред основног текста налази се резиме са кључним речима на српском и енглеском језику, као и садржај. У докторској дисертацији је цитирано и у литератури наведено 173 референци. Дисертација садржи изјаву о ауторству, изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације и изјаву о коришћењу, као и биографију кандидата.

Дисертација се састоји из следећих поглавља: 1. Увод (стр. 1-5), 2. Општи део (стр. 6-38), 3. Циљеви истраживања (стр. 39), 4. Материјали и методе (стр. 40-56), 5. Резултати и дискусија (стр. 57-133), 6. Закључак (стр. 134-139), 7. Литература (стр. 140-156) и 8. Прилози (стр. 157-158). Поглавља Општи део, Материјал и методе и Резултати и дискусија садрже више потпоглавља.

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

У поглављу **Увод** кандидат је представио историјат и развојни пут производње воћних вина у свету и код нас а затим је указано на значај гајења малине и купине у нашој земљи и место које Србија заузима као произвођач овог воћа. Указано је на садржај биоактивних компоненти у јагодастом воћу, пре свега полифенолних једињења и њихов утицај на здравље људи као и садржај биоактивних компоненти у воћном вину од малине и купине.

Поглавље **Општи део** се састоји из шест потпоглавља. У првом и другом потпоглављу, **Купина** и **Малина**, у кратким цртама су дати распрострањеност, морфологија, класификација и опис и карактеристике појединих сорти купине и малине.

Описане су сорте купине Чачанска Бестрна, Торнфри и дивља купина (*R. fruticosus* L.) као и сорте малине Виламет и Микер. Дати су описи и карактеристике плодова наведених сорти и њихова употребна вредност. Такође, наведени су подаци о производњи малине и купине у свету и код нас и о позицији коју Србија заузима као произвођач малине и купине. У потпоглављу **Хемијски састав и нутритивна вредност плодова малине и купине** дат је детаљан табеларни приказ хемијског састава плодова малине и купине: садржај витамина, минерала, угљених хидрата, киселина, масти, протеина и енергетска вредност. У потпоглављу **Полифенолна једињења**, кандидат је дао класификацију, распрострањеност у природи и функцију полифенолних једињења. Детаљно су описане поједине групе полифенолних једињења и њихова присутност у појединим сортама малине и купине и представљени су литературни наводи појединих аутора о садржају полифенолних једињења и антиоксидативним својствима воћних вина. Наведена су полифенолна једињења која су карактеристична само за одређену сорту. У потпоглављу **Воћна вина** дат је шематски приказ и текстуални опис технолошког поступка производње воћних вина. Описани су технолошки поступци производње који су данас највише у примени по којима се добијају два различита типа вина. Посебана пажња је посвећена алкохолној ферментацији и условима под којима се одиграва као и преферментативним процесима и технолошким захватима у постферментативној фази. Потпоглавље **Сензорна анализа** обухвата теоријске основе сензорне анализе и дати су описи и дефиниције чулних опажања, особине дегустатора и потенцијалних дегустатора и сама техника дегустације. Дат је опис услова под којима треба да се врши сензорна анализа вина.

У поглављу **Циљеви истраживања** кандидат је навео научне циљеве који су постављени: Утврђивање потенцијала појединих сорти малине и купине као сировина за производњу воћних вина; утврђивање услова ферментације и дефинисање технолошких параметара под којима се добија максимално могући садржај полифенолних једињења и антиоксидативни капацитет воћних вина; карактеризација финалног производа са аспекта основних параметара квалитета, укупног садржаја полифенола и антиоксидативног капацитета; утврђивање/дефинисање везе између параметара физикохемијске анализе и сензорних својстава узорака вина; поређење квалитета добијених узорака вина у овом истраживању и комерцијално доступних узорака воћних вина; сензорна анализа добијених узорака воћних вина.

У поглављу **Материјали и методе**, кандидат даје детаљан опис материјала који су коришћени и метода које су примењене у анализима које су спроведене у току експеримента. Ово поглавље обухвата укупно 15 потпоглавља. У потпоглављу **Припрема узорака вина**, кандидат је дао опис процедуре припреме узорака воћних вина на којима су вршене даље анализе. Наведен је извор одакле су плодови малине и купине прикупљени, услови чувања плодова до момента отпочињања експеримента, услови под којима се вршила ферментација. Ферментација је вршена под следећим условима: на температури 15 и 22 °С, са селекционисаним квасцима и спонтано са и без додатка сумпор диоксида. Након обављене алокохолне ферментације приступило се даљим анализама.

Одређивање садржаја укупне суве материје, етанола и укупног екстракта је вршено на алколајзеру на сваких 24 h од почетка до краја ферментације, а резултати су коришћени за формирање графикона динамике и кинетике алкохолне ферментације. Кандидат даље описује **Одређивање садржаја укупних киселина** методом потенциометријске титрације (Рајковић, 2007), **Одређивање садржаја испрљивих киселина у вину** (Даничић, 1985), **Одређивање количине пепела у вину** (OIV-MA-AS2-04: R2009) а затим **Одређивање количине сумпор диоксида у узорцима вина** (Curvelo-Garcia i Godinho, 1986). Вршена је анализа садржаја укупног и слободног сумпор диоксида у вину методом по Ripper-у. Након описа метода које карактеришу добијене узорке вина са аспекта основних параметара квалитета, наводе се методе које карактеришу узорке са аспекта садржаја полифенолних једињења и антиоксидативног капацитета. **Одређивање садржаја укупних полифенола** методом по Folin-Ciocalte-у (Singleton i Rossi, 1965; Singleton et al., 1999) је спектрофотометријска метода која се заснива на оксидацији полифенолних једињења помоћу Folin-Ciocalte реагенса. Анализа садржаја полифенолних једињења је вршена на свака 24 сата од почетка до краја ферментације и добијени резултати су коришћени за формирање дијаграма динамике и кинетике екстракције полифенолних једињења у току алкохолне ферментације. Потпоглавља **Одређивање антиоксидативне активности у узорцима вина** FRAP методом (Ferric Reducing Antioxidant Power) (Benzie i Strain, 1996), **Одређивање антирадикалске активности DPPH** методом (Brand-Williams et al., 1995) и **Одређивање антиоксидативног капацитета вина** TEAC тестом (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) (Re et al., 1999) дају описе антиоксидативних метода које су примењене за утврђивање антиоксидативних својстава добијених узорка воћних вина. Добијени резултати из ових метода су стављени у однос са резултатима добијеним за садржај укупних полифенола у узорцима вина да би се утврдила њихова међусобна веза. Даље, обављена је **Спектрофотометријска анализа интензитета боје** узорка вина (Glories, 1984; Wrolstad et al., 2005) и извршено је **Одређивање садржаја укупних антоцијана** рН диференцијаном методом (Giusti i Wrolstad, 2001). LC/MS (Liquid Chromatography/Mass Spectrometry) анализом вршено је **Одређивање садржаја фенолних киселина и флавоноида у узорцима вина**. Детектовано је и квантификовано укупно 12 фенолних једињења који карактеришу узорке воћних вина од малине и купине. Резултати LC/MS анализе пружају информацију о заступљености појединих полифенолних једињења у узорцима вина. У потпоглављу **Сензорна анализа воћних вина** дат је опис услова под којима је сензорна анализа вршена. Оцењивани су боја, бистрина, типичност, мирис и укус. Примењен је Вихбаум метод позитивног рангирања са скалом до највише 20 бодова. Након свих обављених анализа извршена је **Статистичка анализа**. Сви добијени подаци су обрађени уз помоћ дескриптивне статистике, анализе варијансе (ANOVA) и Tukey HSD теста, као и применом метода главних компоненти (Principal Components Analysis - PCA) у зависности од карактера података који су добијени у експерименту.

Поглавље **Резултати и дискусија** се састоји из 6 потпоглавља. У потпоглављу **Физичко-хемијска анализа воћних вина**, кандидат је дао табеларни приказ садржаја етанола, укупних и испарљивих киселина, укупног и слободног сумпор диоксида, садржај укупног екстракта и садржај пепела у узорцима воћних вина. Вршено је поређење ових параметара са наводима других аутора за воћна вина из различитих делова света. Садржај етанола се креће у распону од 3.99 % v/v за узорке вина од Чачанске бестрне купине (КЧ) до 7.20 % v/v за узорке вина од дивље купине (КД). У узорцима који су ферментисали на 15 °C садржај етанола је био виши у односу на узорке који су ферментисали на 22 °C. Узорци који су ферментисали спонтано су садржали више испарљивих киселина у односу на узорке који су ферментисали селекционисаним квасцима. Садржај укупног и слободног сумпор диоксида је био у свим узорцима на ниском нивоу након завршене алкохолне ферментације, и вредности за слободни сумпор диоксид нису прелазиле 3 mg/L. Садржај екстракта и пепела је био највиши у КД узорцима. Услови ферментације нису имали утицај на садржај пепела и укупних киселина у узорцима вина и вредности за ове параметре искључиво зависе од сорте малине или купине од које је вино произведено. У потпоглављу **Динамика и кинетика ферментације и екстракције полифенолних једињења** дат је графички приказ динамике и кинетике алкохолне ферментације и екстракције полифенолних једињења за сваки узорак, укупно 42 графикана. Направљена је веза између кинетике алкохолне ферментације и кинетике екстракције полифенолних једињења и утврђени су моменти максималне екстракције полифенолних једињења и максималног интензитета ферментације. Такође, утврђени су моменти када садржај укупних полифенола у узорцима вина постиже максималну концентрацију у току ферментације, након чега се бележи благи пад или нема промена у концентрацији до краја ферментације. Узорци који су ферментисали на 22 °C имали су виши садржај полифенолних једињења у односу на узорке који су ферментисали на 15 °C. Максимална екстракција и максимални интензитет ферментације код узорака који су ферментисали на 22 °C су постигнути раније, за 40 до 72 h након почетка ферментације у односу на узорке који су ферментисали на 15 °C, где је максимум екстракције забележен у распону од 72 до 90 h након почетка ферментације, у зависности од узорка. Узорци који су ферментисали уз додатак сумпор диоксида су раније достигли максималну екстракцију у односу на узорке који нису сулфитисани. Такође, код сулфитисаних узорака је екстракција почела одмах након сулфитисања кљука, док се код узорака који нису сулфитисани почетак екстракције полифенолних једињења поклапа са почетком алкохолне ферментације. Масимални интензитет екстракције полифенолних једињења се поклапа са максималним интензитетом алкохолне ферментације код свих узорака. Није утврђено да постоји веза у садржају полифенолних једињења у узорцима који су ферментисали спонтано и узорцима који су ферментисали са селекционисаним квасцима. Највиши садржај полифенолних једињења је измерен у КД узорцима (у просеку 5.14 g/L), затим у КЧ узорцима (3.28 g/L), па следе узорци МВ (2.90 g/L), КТ (2.83 g/L) и ММ (2.25 g/L). У потпоглављу **Анализа фенолних киселина и флавоноида**, дат је табеларни приказ садржаја ових једињења у

узорцима вина. Детектовано је и квантификовано укупно 12 полифенолних једињења: гална киселина, елагинска киселина, протокатехуинска киселина, хидроксибензоева киселина, хлорогенска киселина, р-кумаринска киселина, кафеинска киселина, катехин, епикатехин, рутин, кверцетин и кемферол. Полифенолна једињења која су присутна у највећим количинама у свим узорцима воћних вина су гална, елагинска и протокатехуинска киселина. Анализом главних компоненти (РСА) утврђено је која од квантификованих полифенолних једињења у највећој мери карактеришу вина од одређених сорти купине и малине. Утврђено је да кверцетин, кефеинска киселина и р-хидроксибензоева киселина карактеришу вино од дивље купине са 80.1 %; р-кумаринска киселина, катехин и гална киселина карактеришу вино од Чачанске бестрне купине са 82.5 %; катехин, р-кумаринска киселина, епикатехин и протокатехуинска киселина карактеришу вино од Торнфри купине са 83.7%; катехин, гална киселина, епикатехин и р-хидроксибензоева киселина карактеришу вино од Виламет малине са 77.4% и кемферол, кверцетин, гална киселина и протокатехуинска киселина карактеришу вино од Микер малине са чак 89.8 %. У потпоглављу **Антиоксидативни капацитет воћних вина и корелација између садржаја укупних полифенола и антиоксидативног капацитета воћних вина** дате су вредности за FRAP, DPPH и TEAC тест за све узорке вина. Највиши антиоксидативни капацитет поседују вина од дивље купине и то узорци који су ферментисали на 22 °С, затим ЧБ узорци вина, па МВ узорци, и на крају КТ и ММ узорци. Утврђено је да постоји веома јака корелација између садржаја полифенолних једињења и антиоксидативног капацитета узорака вина. Испитан је утицај сумпор диоксида присутног у узорцима вина на антиоксидативни капацитет воћних вина и утврђено је да у зависности од концентрације може утицати на смањење укупног антиоксидативног капацитета за 2.31 % - 22.30 % у односу на укупни антиоксидативни капацитет. У потпоглављу **Садржај укупних антоцијана и интензитет боје у узорцима вина**, кандидат је дао табеларни приказ уз одговарајућу дискусију. Садржај укупних антоцијана је у корелацији са садржајем укупних полифенола у узорцима вина: у узорцима вина где је виши садржај укупних полифенола виши је и садржај антоцијана. Највиши садржај антоцијана је измерен у КД узорцима. Интензитет боје узорака вина је у корелацији са садржајем укупних антоцијана. У КД, КЧ, КТ и МВ узорцима садржај укупних антоцијана је био статистички значајно виши код оних узорака који су ферментисали на 22 °С у односу на узорке који су ферментисали на 15 °С. Код ММ узорака није постојала разлика у садржају укупних антоцијана у зависности од температуре ферментације. У потпоглављу **Сензорна анализа воћних вина** дате су оцене сензорне анализе са припадајућим медаљама и детаљним описом сензорних запажања за све узорке. Укупно је оцењено и описано 52 узорка и додељено је 25 златних и 27 сребрних медаља. Најбоље је оцењен КД8 узорак са 18.60 бодова. Овај узорак је ферментисао на 15 °С са селекционисаним квасцима уз додатак сумпор диоксида. Узорци који су ферментисали на 15 °С са селекционисаним квасцима су генерално боље оцењени у односу на узорке који су ферментисали на 22 °С. Ови резултати су у супротности са параметрима физико-хемијске и инструменталне

анализе, где су узорци који су ферментисали на 22 °C показали боље резултате. Комерцијални узорци воћних вина упркос лошим параметрима физико-хемијске анализе су показали задовољавајући ниво сензорне прихватљивости и додељена им је сребрна медаља.

Поглавље **Закључак** садржи правилно изведене закључке који произилазе из добијених резултата. Највећу супериорност са аспекта потенцијала сорти за производњу воћних вина, са аспекта параметара физико-хемијске анализе, садржаја укупних полифенолних једињења и антиоксидативног капацитета показала је дивља купина, затим следе Чачанска бестрна купина, Торнфри купина, сорта малине Виламет и на крају сорта малине Микер. Температура ферментације има највећи утицај на кинетику и интензитет екстракције и садржај укупних полифенола у воћним винима. Код узорака који су ферментисали са додатком сумпор диоксида примећен је тренутни почетак екстракције полифенолних једињења. Овај ефекат је био јачи код узорака који су ферментисали на 22 °C у односу на узорке који су ферментисали на 15 °C. Код узорака који нису сулфитисани, екстракција полифенолних једињења прати кинетику алкохолне ферментације. Није утврђено да постоји разлика у садржају полифенола у узорцима који су спонтано ферментисали и узорака који су ферментисали са селекционисаним квасцима. Садржај полифенолних једињења у узорцима код којих је ферментација/мацерација трајала 360 h у односу на оне где је ферментација трајала 120 h је био статистички значајно нижи. Садржај полифенолних једињења у узорцима вина добијеним ферментацијом сока је статистички веома значајно нижи у односу на садржај у узорцима вина који су добијени ферментацијом кљука. Највише вредности за антиоксидативни капацитет у узорцима вина су измерене у КД узорцима (70.74 mmol TE/L за КД1), затим у ЧБ узорцима (56.40 mmol TE/L за ЧБ1), МВ узорцима (46.50 за МВ1), затим следе КТ узорци (40.50 mmol TE/L за КТ1) и ММ узорци (30.30 mmol TE/L за ММ1). Утврђено је да постоји јака позитивна корелација између садржаја укупних полифенола и антиоксидативног капацитета воћних вина. Резултати сензорне анализе су показали да су узорци који су ферментисали на 15 °C сензорно прихватљивији у односу на узорке који су ферментисали на 22 °C, што је у супротности са резултатима физико-хемијске и инструменталне методе анализе. Утврђено је да комерцијални узорци воћних вина имају лошије параметре квалитета по основу физико-хемијске и инструменталне анализе, али је сензорна прихватљивост ових узорака на задовољавајућем нивоу.

У поглављу **Литература** на правилан начин наведено је укупно 173 референци, које су актуелне и одговарају предмету проучавања. У поглављу **Прилози** приказана су три прилога.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска дисертација кандидата Радована Ђорђевића, дипл. инж., под насловом: «Утицај начина винификације на антиоксидативни капацитет воћних вина», представља оригинално и самостално научно дело са практичним и фундаменталним значајем. Докторска дисертација представља успешно спроведен самостални

експериментално-истраживачки научни рад који је у потпуној сагласности са предвиђеним планом приликом пријаве теме докторске дисертације. Научни допринос ове дисертације огледа се у утврђивању и дефинисању услова ферментације при којима се добија максимално могући садржај полифенолних једињења и антиоксидативни капацитет воћних вина од малине и купине. Испитана су и окарактерисана својства одређених сорти малине и купине и утврђен потенцијал који поседују са аспекта производње воћних вина. Утврђено је да плодови дивље купине поседују највећи потенцијал и дају вина са веома високим антиоксидативним капацитетом. Утврђено је да је температура кључни фактор који утиче на ток и интензитет екстракције полифенолних једињења. Утврђена је и окарактерисана веза која постоји између садржаја полифенолних једињења и антиоксидативног капацитета воћних вина. Такође, идентификована су и квантификована поједина полифенолна једињења и утврђено која од њих у највећој мери карактеришу вина од сорти купине и малине које су коришћене у овом истраживању.

Имајући у виду све изнето, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију кандидата Радована Ђорђевића, дипл. инж., под насловом: **«Утицај начина винификације на антиоксидативни капацитет воћних вина»** и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, да ову позитивну оцену усвоји и тиме омогући кандидату да пред истом Комисијом јавно брани докторску дисертацију.

Чланови комисије:

др Нинослав Никићевић, редовни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Наука о врењу

др Александар Петровић, доцент
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Наука о врењу

др Милован Величковић, редовни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Опште воћарство

др Миомир Никшић, редовни професор
Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Технолошка микробиологија

др Веле Тешевић, ванредни професор
Универзитет у Београду – Хемијски факултет
Ужа научна област: Органска хемија

Београд, 21.04.2016. године

Прилог

Објављен рад кандидата Радована Ђорђевића дипл.инж. у часопису који је на SCI листи:

Djordjević, R., Gibson, B., Sandell, M., Billerbeck, G. M., Bugarski, B., Leskošek-Čukalović, I., Vunduk, J., Nikićević, N., Nedović, V. (2015): Raspberry wine fermentation with suspended and immobilized yeast cells of two strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 32(1), 271-279.