

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број захтева: 277/2-6.1.
Датум: 27.11.2013. године

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на извештај о урађеној докторској дисертацији

Молимо да, сходно члану 46. став 5. тачка 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета" број 131/06), дате сагласност на извештај о урађеној докторској дисертацији кандидата мр Драгана Станисављевић.

Кандидат **мр Драгана (Милован) Станисављевић** пријавила је докторску дисертацију под називом: «Могућност примене биљних екстраката у производњи безалкохолних пића».

из научне области Прехрамбена технологија.

Универзитет је дана 23.06.2009. године, својим актом 01 број 612-17/68/09 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: **«МОГУЋНОСТ ПРИМЕНЕ ЕКСТРАКАТА ЛЕКОВИТОГ И АРОМАТИЧНОГ БИЉА У ПРОИЗВОДЊИ БЕЗАЛКОХОЛНИХ ПИЋА».**

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације мр Драгана Станисављевић, образована је на седници одржаној 26.06.2013. године, одлуком Факултета број 356/9-5.1. у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област

1. др Бранислав Златковић, ред.професор, Наука о конзервисању,
2. др Предраг Вукосављевић, ванр.професор, Наука о конзервисању,
3. др Малиша Антић, ванр. професор, Хемија,
4. др Софија Ђорђевић, научни саветник,
5. др Драган Величковић, виши научни сарадник.

Наставно-научно веће факултета прихватило је извештај Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације, на седници одржаној 27.11.2013. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 277/2-6.1.
Датум: 27.11.2013. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 73. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 27.11.2013. године, донело је

ОДЛУКУ

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднела **мр ДРАГАНА СТАНИСАВЉЕВИЋ** и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **«МОГУЋНОСТ ПРИМЕНЕ ЕКСТРАКТА ЛЕКОВИТОГ И АРОМАТИЧНОГ БИЉА У ПРОИЗВОДЊИ БЕЗАЛКОХОЛНИХ ПИЋА»**.

II Универзитет је дана 23.06.2009. године, својим актом број 01 број 612-17/68/09 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у часопису међународног значаја:

Stanisavljević, M.D., Stojičević S.S., Đorđević, M.S., Zlatković, P.B., Veličković, T.D., Karabegović, T.I., Lazić, L.M., (2012): Antioxidant activity, the content of total phenols and flavonoids in the ethanol extracts of *Mentha longifolia* (L.) Hudson dried by the use of different techniques– Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly, 18 (3) 411-42.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, ментору др Браниславу Златковићу, редовном професору, Институту за прехранбену технологију и биохемију, Студентској служби и архиви.

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

**Предмет: Извештај Комисије за оцену и одбрану урађене докторске дисертације
мр Драгане Станисављевић**

Одлуком бр. 356/9-5.1. донетој на седници од 26.06.2013. године, а на основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 72. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета нас је именovalo као Комисију за оцену и одбрану урађене дисертације коју је поднела мр ДРАГАНА СТАНИСАВЉЕВИЋ, под насловом: „МОГУЋНОСТ ПРИМЕНЕ ЕКСТРАКТА ЛЕКОВИТОГ И АРОМАТИЧНОГ БИЉА У ПРОИЗВОДЊИ БЕЗАЛКОХОЛНИХ ПИЋА“.

Након детаљне анализе преузете Дисертације подносимо следећи

Р Е Ф Е Р А Т

I) ОПШТИ ПОДАЦИ О ДИСЕРТАЦИЈИ

Дисертација је написана на 189 (сто осамдесет девет) страница текста и 17 (седамнаест) страница на којима су приказани прилози везани за текст дисертације. Текст је праћен са 58 (педесет осам) табела и 51 (педесет једном) сликом. Кандидат се у тексту позива на 305 (три стотине пет) литературних навода.

Дисертација је обрађена кроз 6 (шест) независних и за овакав тип радова обавезних целина:

1. УВОД /1-4/
2. ТЕОРИЈСКА АНАЛИЗА ИСПИТИВАНИХ ФЕНОМЕНА /5-66/,
3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО /67-168/,
4. ЗАКЉУЧЦИ /169-171/,
5. ЛИТЕРАТУРА /172-189/,
6. ПРИЛОЗИ.

II) ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Свака од наведених целина је довољно детаљно и прецизно објашњена релевантним елементима.

1. УВОД

У овом делу је на јасан начин дефинисана улога фитонутријената у исхрани човека и указано је на могући значај истраживања из дисертације при формулисању нових производа из групе пића за освежење и уживање. Између осталог, прецизно су дефинисани циљеви постављени пред кандидатом - да из одабраних врста биљака: *Satureja kitaibelii* (чубар), *Origanum vulgare* (враилова трава), *Nepeta nuda* (мацина трава глатка), *Thymus serpyllum* (мајкина душица), *Mentha longifolia* (дуголисна нана), *Hyssopus officinalis* (изоп), *Artemisia alba* (рудински пелен) добије екстракте и етарска уља, да савременим методама хемијске анализе одреди њихову антиоксидативну и антимикуробну активност, да на основу сензорне анализе узорака готових производа са добијеним екстрактима испита могућност стварања „формула“ за нова безалкохолна пића, да код тако одабраних производа испита антиоксидативну активност и да на основу свега тога утврди оправданост њихове производње и примене.

2. ТЕОРИЈСКИ ДЕО (ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ)

У поглављу означеном као теоријски део кандидат је обрадила и анализирала литературна сазнања о феноменима и поступцима који су важни за њену докторску дисертацију. Овде аутор указује на чињеницу да је човек током своје историје желео да створи непрерађене намирнице са неким пожељним технолошким, али и нутритивним карактеристикама. Да би плодови били крупнији, лепши, сочнији, слађи и сл. човек је нове врсте посебно неговао и чувао. Зато су оне изгубиле природну отпорност према микроорганизмима који се развијају у њиховој близини или према радикалима који настају током метаболизма.

Имајући у виду значај ароматичног и лековитог биља за исхрану, или можда због жеље да тај значај истакне у својој докторској дисертацији, кандидат је, потпуно логично и научно оправдано, ово поглавље ограничила на четири подпоглавља:

- БИОЛОШКИ АКТИВНА ЈЕДИЊЕЊА У ХРАНИ /5-16/,
- ЛЕКОВИТЕ И АРОМАТИЧНЕ БИЉКЕ КАО ИЗВОРИ БИОЛОШКИ АКТИВНИХ СУПСТАНЦИ /16-38/,
- ИЗОЛОВАЊЕ БИОАКТИВНИХ СУПСТАНЦИ ИЗ БИЉНОГ МАТЕРИЈАЛА /38-52/
- ПРЕВЕНЦИЈА ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА ИСХРАНОМ /52-66/.

У првом подпоглављу се говори о компонентама хемијског састава које садрже ароматичне и лековите биљке, а које као фитонутријенти имају повољан ефекат на здравље људи. У складу са постављеним циљевима дисертације, посебно се истиче значај микробицидног (микробистатичног) деловања и антиоксидативних ефеката уноса фитонутријената.

Друго подпоглавље је посвећено анализи биљних врста које су са стаништем у јужној и југоисточној Србији - посебно шири регион Ниша, а које су због већ доказаног израженог антимикробног и антиоксидативног деловања интересантне за прехранбену индустрију: *Satureja kitaibelii*, *Origanum vulgare*, *Nepeta nuda*, *Thymus serpyllum*, *Mentha longifolia*, *Hyssopus officinalis* и *Artemisia alba*.

Треће подпоглавље се односи на поступке изоловања биолошки активних супстанци из биљног материјала и њихову практичну примену као сировине при производњи пића за освежење и уживање. У том смислу ово подпоглавље је разрађено кроз 4 (четири) теме. Без обзира на број ових супстанци и локације где се оне синтетишу или складиште у биљци, ради се о једињењима различите растворљивости у једном или више растварача. Тако су у пракси оптимизирани поступци екстракције у води, алкохолу или неком другом растварачу.

У овом подпоглављу објашњене су две групе биљних изолата: флавоноиди и друга полифенолна једињења који се налазе у испитиваним биљкама и етарска уља која представљају комплексне композиције веома различитих једињења, а која су добијена поступком хидродестилације ароматичних биљака. Следећа тема се односи на анализу стабилности биолошки активних супстанци при технолошким поступцима прераде и примене у производњи пића. У том смислу је посебно указано на поступке топлотног третмана везано за дехидрацију (удаљавање воде) у случају да се примењује сушење биљних материјала или концентрисање екстраката.

На крају, четврта тема је посвећена примени биолошки активних супстанци из хране у превенцији оксидативног стреса. Овде је дата пирамида уноса воде и указано је на значај дефинисања појма функционалне хране. Са тим у вези указано је на улогу пића за освежење и уживање као производа који могу да буду основни (најважнији) извор ових биолошки активних фитонутријената.

3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО

Експериментални део дисертације је сачињен од три функционалне целине:

- МАТЕРИЈАЛ /67-71/
- МЕТОДЕ ИСПИТИВАЊА /72-86/
- РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА /87-168/

Коришћени **МАТЕРИЈАЛ** је дефинисан преко три наслова. У првом је дат локалитет са ког су убране биљке уз напомену да су, после идентификације, одабрани примерци свих врста биљака депоновани у хербаријуму Института за ботанику Биолошког факултета Универзитета у Београду.

У другом наслову су дефинисане све хемикалије и реагенси који су коришћени код изоловања, хемијске анализе и примене биолошки активних супстанци у производњи пића.

Ради конзервисања биљних материјала за каснија истраживања из убраних биљака је одузета слободна вода различитим поступцима дехидрације. У трећем наслову је јасно дефинисан начин сушења узорка и у којим случајевима су исти коришћени.

За потребе ове дисертације коришћене су различите МЕТОДЕ ИСПИТИВАЊА. Све методе су систематизоване по циљу извођења.

Биљни материјал је сушен на три принципијелно различита начина:

- ✓ сушење у хладу на промајном месту са природним струјањем ваздуха,
- ✓ у лабораторијској конвективној сушари са принудним струјањем ваздуха и
- ✓ у нискотемпературској кондензационој сушари.

Екстракти из осушеног и уситњеног биљног материјала су добијени модификованим фармакопејским поступком једноструке перколације помоћу 70% v/v етанола (Ph. Jug. IV).

Течни екстракти су упаравани у ротационом вакуум упаривачу IKA-WERKE, GMBH&CO.KG, D-79219 Staufen на 50°C. Концентрати су даље сушени на 50°C у вакуум сушници до сува. Суви екстракти су уситњени у прах, пренети у стаклене посуде и тако су чувани на сувом, хладном и тамном месту.

Принос екстраката је одређиван гравиметријском методом (Ph. Jug. IV).

Етарска уља су добијана хидродестилацијом у апарату по Клевенџеру (Ph. Jug. IV). Уља су чувана у стакленим ампулама на +4°C.

Квалитативна и квантитативна анализа испарљивих компоненти екстраката и етарских уља вршена је GC-FID и GC-MS техникама.

GC-FID анализа екстраката и етарских уља урађена је на гасном хроматографу Hewlett Packard, модел 5890 II опремљеним split/splitless инјектором, HP-5 капиларном колоном и пламено-јонизујућим детектором (FID).

GC-MS анализа екстраката и етарских уља извршена је на гасном хроматографу Hewlett Packard, GCD серије II, модел HP G1800C, опремљеним split/splitless инјектором, HP-5MS капиларном колоном и масеноспектрометријским селективним детектором (MSD).

Садржај укупних фенола, као важних биолошки активних супстанци, одређиван је методом по Folin-Ciocalteu, а изражаван је преко садржаја галне киселине (Singleton i Rossi, 1965).

Садржај флавоноида је утврђиван спектрофотометријском методом. Апсорбанца на 415 nm је утврђивана након изазивања бојене реакције са AlCl₃ (Chang et al., 2002).

Фенолна једињења у екстрактима раздвајана су и дефинисана применом течне хроматографије под високим притиском (High Performance Liquid Chromatography) на Agilent 1100 Series са UV-DAD детектором и применом оригиналне методе (Veit et al., 1995). Коришћена је Agilent Eclipse XDB-C18 колона.

Антиоксидативна активност екстраката, етарских уља и готових производа утврђивана је признатим методама: FRAP тест и DPPH тест.

За утврђивање антимикробне активности екстраката и етарских уља одабраних

лековитих и ароматичних биљних врста *in vitro* коришћени су агар дифузиони (Acar i Goldstein, 1996) и микродилуциони метод (Candan et al., 2003). Добијени резултати су упоређивани са активношћу одговарајућих антибиотика: амикацин, ампицилин и нистатин. За потребе ове дисертације коришћени су стандардни сојеви микроорганизама из колекција ATCC (American Type of Culture Collection) и NCIMB (National Collection of Industrial Bacteria, Aberdeen). Антимикробна активност екстраката и етарских уља је изучавана на девет сојева бактерија и два соја гљивице *Candida*: *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Micrococcus flavus* ATCC 10240, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* NCIMB 9111, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10259, *Candida albicans* ATCC 24433.

Сви стандардни сојеви су добијени из Института за имунологију и вирусологију „Торлак“ у Београду.

Добијени екстракти коришћени су да се произведу готови производи у виду освежавајућих пића и пића за уживање:

- Ледени чај
- Сируп
- Освежавајуће пиће и
- Ликер.

Производња безалкохолних пића за освежавање и уживање није праћена стандардима о квалитету, већ се квалитет дефинише произвођачком спецификацијом. Дакле, нема јасно дефинисаног стандарда о минималним условима квалитета које пиће мора да испуни ако се нуди потрошачу. По условима хоризонталне регулативе је важно само да се поштују прописи из правилника о примени адитива, здравственој безбедности производа и декларисању. Стога је колегиница оправдано одабрала слаткоћу пића (однос шећера и киселина), а затим је додавала екстракте са идејом да се добије најприхватљивији производ. Етарска уља, због слабе растворљивости у воденим растворима и у алкохолно-водним мешавинама са малим процентом алкохола нису додавана, а и антиоксидативност им је мања у односу на екстракте. Насупрот етарским уљима, етанолно-водени екстракти се добро инкорпорирају у припремана пића. Узорци су се разликовали само по уделу биљног изолата, а сензорном оценом је тражена најприхватљивија концентрација биљног изолата у сваком пићу. Избор биљака је извршен на основу искуства.

С обзиром на ароматски комплекс који поседују, ледени чај је припреман од екстраката хербе чубра (*Satureja kitaibelii*) и вранилове траве (*Origanum vulgare*).

Од екстракта хербе мајкина душица (*Thymus serpyllum*) припреман је сируп са 65% шећера и различитим уделима екстракта (од 1,0 g/l до 5,0 g/l).

Освежавајуће пиће је припремано од хербе *Mentha longifolia*.

Због карактеристичног укуса, за производњу ликера коришћена је херба рудинског пелена (*Artemisia alba*).

Сензорну оцену је радила петнаесточлана комисија стручњака из области прехранбене технологије. Оцењивање је обављено по моделу који је опште прихваћен за оцењивање освежавајућих пића на сајму хране и пића у Новом Саду.

Обрада експерименталних података је вршена применом програма Origin 8.0, Microsoft Excell 2007 и Sigma Plot 2000 Trial. Резултати су статистички обрађени помоћу софтверског пакета SPSS (for Windows Release 10.0 SPSS Inc., 1989-1999, Trial) у оквиру којег су разлике између просечних вредности резултата утврђиване анализом варијансе (one-way ANOVA), а за post-hoc анализу су коришћени Такијев (Tukey HSD) и Шефеов (Scheffé) тест.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

У складу са постављеним циљевима истраживања и одабраним методама, а поштујући принцип прегледности, резултати докторске дисертације су приказани и на основу њих је изведена дискусија у две целине:

- Карактеристике полазних сировина и полупроизвода
- Карактеристике готових производа.

Ради утврђивања оправданости производње и примене екстракта, полазне сировине (биљни материјал) и полупроизводи (екстракти и етарска уља) су анализирани кроз неколико тема:

- ✓ Основни хемијски састав биљног материјала,
- ✓ Принос етанолно - водених екстракта,
- ✓ Садржај етарских уља у биљном материјалу,
- ✓ Састав испарљиве фракције екстракта и етарских уља,
- ✓ Садржај укупних фенола и флавоноида у екстрактима,
- ✓ Садржај неиспарљивих супстанци у екстрактима,
- ✓ Антиоксидативна активност екстракта и етарских уља,
- ✓ Утицај начина сушења на садржај укупних фенола и флавоноида у екстрактима,
- ✓ Утицај начина сушења на антиоксидативну активност екстракта и етарских уља,
- ✓ Антимикробна активност екстракта и етарских уља.

Резултати и дискусија карактеристика готових производа приказани су кроз следеће теме:

- ✓ Сензорна оцена квалитета готових производа,
- ✓ Хемијска анализа готових производа,
- ✓ Укупна фенолна једињења и флавоноиди у готовим производима,
- ✓ Антиоксидативна активност готових производа.

Основна анализа коришћеног биљног материјала (садржај влаге, пепела и песка) показала је да су биљке правилно припремљене и осушене.

Принос екстракта се кретао од 8,9% код *Mentha longifolia* сушене у нискотемпературној кондензационој сушари до 16,5% код хербе *Artemisia alba*. Одређени утицај на принос етанолно-воденог екстракта може да има и метод сушења. Најбољи принос је остварен после сушења у хладу на промајном месту са природном конвекцијом ваздуха (11,6%).

Највећи садржај етарског уља је забележен код дуголисне нане *Mentha longifolia* која је сушена у нискотемпературној сушари (11 ml/kg), а најмањи код *Satureja kitaibelii* (3 ml/kg).

Квалитативни и квантитативни састав испарљивих фракција екстракта и етарских уља приказан је за сваку испитивану биљку и за све идентификоване компоненте хроматограмима (у прилогу) и табелама. Без обзира на велики број података резултати су јасно сложени и коментарисани.

Посебно је издвојен, одређиван и коментарисан садржај фенолних материја и међу њима флавоноида. Данас се ове супстанце све више истичу као важни фитонутријенти са улогом антиоксиданаса. Међу њима су и биофлавоноиди (витамин Р). Највећи садржај укупних фенола и флавоноида је забележен код екстракта *Origanum vulgare*. Утврђени садржај укупних фенола је био $129,2 \pm 12,71$ mg галне киселине/g сувог екстракта, док је садржај флавоноида био $110,7 \pm 2,47$ mg рутина/g сувог екстракта. Најнижи садржај ових фитонутријената садрже екстракти биљке *Nepeta nuda*: $40,9 \pm 1,21$ mg галне киселине/g сувог екстракта и $20,0 \pm 0,6$ mg рутина/g сувог екстракта. Са становишта производње пића посебно је важан садржај неиспарљивог екстракта. Зато су ови фитонутријенти раздвајани и упоређивани у свим биљкама. Код дискусије

је дат упоредни приказ резултата тако да се може уочити која биљка је у којим нутријентима богатија.

Као општи показатељ нутритивности утврђивана је антиоксидативна активност екстракта и етарских уља, са две упоредне методе: FRAP и DPPH.

Највећу FRAP вредност антиоксидативности показао је екстракт *Origanum vulgare* ($5,89 \pm 0,12 \text{ mmol Fe}^{2+}/\text{g}$) док је најмању испољио екстракт *Nepeta nuda* ($0,86 \pm 0,07 \text{ mmol Fe}^{2+}/\text{g}$). Када се упоређује антиоксидативност етарских уља FRAP методом уочено је да она показују мању активност у односу на екстракте и да највећу активност показује уље *Thymus serpyllum* ($38,85 \pm 0,274 \text{ } \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{ml}$), а најмању уље *Hyssopus officinalis* ($4,68 \pm 0,194 \text{ } \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{ml}$).

Метода неутрализације DPPH радикала је приказана упоредно за екстракт и етарско уље сваке биљке тако да је остварена и већа прегледност код упоређивања што је показано табеларно и графички. У сваком случају, највећу EC_{50} вредност показао је екстракт *Nepeta nuda* ($86,24 \pm 1,850 \text{ } \mu\text{g}/\text{ml}$), а најмању *Origanum vulgare* ($4,77 \pm 0,492 \text{ } \mu\text{g}/\text{ml}$). Упоређивање ефеката редукције DPPH радикала показује да најмањи ефекат остварује уље *Hyssopus officinalis* ($\text{EC}_{50} = 47,50 \pm 1,624 \text{ } \mu\text{l}/\text{ml}$), а највећи уље *Thymus serpyllum* ($0,77 \pm 0,051 \text{ } \mu\text{l}/\text{ml}$).

Са становишта очувања антиоксидативне активности биља и њених изолата свакако је највећи ризик у време сушења хербе. Одрживост антиоксидативности при овој технолошкој операцији која је иначе неопходна у класичним поступцима изоловања и конзервасања изолата, испитиван је за екстракт *Mentha longifolia*. Садржај укупних фенола и флавоноида у екстракту ове биљке утврђиван је после три доминантна начина сушења:

- сушење у хладу на промајном месту са природном конвекцијом,
- сушење у конвективној сушари са принудним струјањем ваздуха и
- сушење у нискотемпературској кондензационој сушари.

Резултати показују да је најприхватљивији начин сушења у хладу на промајном месту без принудне циркулације ваздуха. Тако се код хербе сушене у сушари садржај фенола смањио за једну четвртину, а концентрација флавоноида за једну трећину у односу на хербу сушену у хладу на промајном месту.

Осим овог индиректног начина, промена антиоксидативности екстракта из хербе сушене различитим начинима потврђена је и директним утврђивањима FRAP и DPPH методама. Највећу антиоксидативност показује екстракт из хербе сушене у хладу на промајном месту ($2,76 \text{ mmol Fe}^{2+}/\text{g}$ сувог екстракта, док је код екстракта из биљака сушених у сушарама опао за више од 50% ($1,13 \text{ mmol Fe}^{2+}/\text{g}$ сувог екстракта и $1,22 \text{ mmol Fe}^{2+}/\text{g}$ сувог екстракта).

Антиоксидативност етарског уља је изучавана применом FRAP и DPPH методе. И овде је потврђен закључак да је са становишта антиоксидативности најбољи ефекат показало сушење у хладу на промајном месту – без принудне циркулације ваздуха.

Упоређивањем антиоксидативне активности етанолног екстракта и етарских уља уочава се да већи потенцијал код биља показују екстракти. Другим речима, фенолне компоненте имају далеко већи ефекат него терпенске (доминирају у етарским уљима). С обзиром на важност за дисертацију, ови закључци су статистички тестирани. Зато је тражена корелациона зависност између концентрације фенола/флавоноида и FRAP тј. DPPH вредности.

Ради провере утицаја начина сушења хербе на квалитет екстракта, вршена је анализа неиспарљивих компонената у екстрактима. У раду је анализиран удео 14 идентификованих различитих гликозида у сва три узорка.

Антимикробна активност екстракта и етарских уља свих испитиваних биљака изучавана је на 9 (девет) сојева бактерија и 2 (два) соја гљивица из рода *Candida*.

Резултати су приказани детаљно у табелама. Као еталон за упоредну анализу активности узети су и стандардни антибиотици. Тако се из детаљне анализе и дискусије може уочити који од испитиваних сојева микроорганизама показује значајну осетљивост или отпорност према неком екстракту или етарском уљу тј. који екстракт или етарско уље има већу активност према одабраном соју патогена. Уз све то, активност екстракта или етарског уља за сваку испитивану биљку према одабраним патогенима може се поредити са активитетом познатих и признатих лекова: ампицилин, амикацин и нистатин.

Сви екстракти и етарска уља из испитиваних биљака су чувани ради примене у производњи пића. Пића су добијена у лабораторијским условима и разликовала су се само по уделу екстракта (биља). Све разлике у квалитету се стога могу приписати фитонутријентима из екстракта. У дисертацији су приказани резултати статистичке обраде сензорне анализе пића са екстрактима испитиваних биљака. У дискусији се тражи концентрација која при задатом (одабраном) индексу сласти има најприхватљивија својства.

За ледени чај се као оптимална показала концентрација 1,00 g/l екстракта чубра. Квалитет овог узорка је освојио 84,00% од максимално очекиваног квалитета. У истој концентрацији екстракта вранилове траве ледени чај је освојио 85,75% максимално очекиваног.

Сируп са екстрактом мајкине душице је показао најбоља својства са 4,0 g/l екстракта. Овај производ је освојио 85,50% максимално очекиваног квалитета.

Од дивље нане најбоље је оцењено пиће са 0,80 g екстракта/l које је оцењено са 86,25% од максималног квалитета.

Екстракт рудинског пелена је коришћен за припрему ликера. Као аперитив је најбоље оцењен производ са уделом од 1,00 g/l екстракта. Он је оцењен као 85,20% од максимално жељеног квалитета.

За све „награђене“ производе поново је урађена анализа на антиоксидативност. Том приликом је раздвајана антиоксидативност основе пиће од антиоксидативног ефекта који настаје самим биљним екстрактом. Потврђено је да основа (база) мало утиче на општу антиоксидативност, а додавање екстракта значајно мења антиоксидативност пића. Веома прегледним табелама и графицима овај утицај је веома очигледно приказан, а прецизним дискусијама и веома јасно објашњен.

ЗАКЉУЧАК

Сви ставови у закључку су изведени по основним принципима научног закључивања и исказани су на јасан начин.

ЛИТЕРАТУРА

У раду су литературни подаци правилно цитирани и означени, а сама коришћена литература је у овом делу наведена на исправан начин.

ПРИЛОЗИ

Сви прилози су јасно означени и повезани са обљастима где припадају.

III) ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Резултати ове докторске дисертације су оправдали научну заснованост задате теме, јер су у складу са актуелним резултатима истраживања у области прехранбене технологије тј. производље освежавајућих пића и пића за уживање. Претраживањем литературе и база података, утврђено је да је мало овако комплетних и систематизованих радова са целовитим приказом фитонутријената који имају антиоксидативна и антимикробна својства – од биља, преко полупроизвода до готових производа.

Добијени резултати засновани на идеји да се искористи биљни потенцијал флоре ширег региона Ниша (јужне и југоисточне Србије), направе биљни изолати, анализирају са аспекта хемијског састава, антиоксидативне и антимикробне активности, изабере биолошки најактивнији и сензорно најприхватљивији и на крају формулише нов производ, дају значајан допринос у решавању актуелне и недовољно проучаване и третиране проблематике.

Закључци добијени истраживањем дају одговор на постављене циљеве. Имају изузетан теоријски и практични значај и представљају полазну основу и драгоцену искуство за унапређење у овој области.

Истраживања у овој докторској дисертацији су урађена у потпуној сагласности са прихваћеним програмом у пријави теме.

На основу свега изнетог, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију **мр Драгане М. Станисављевић** под насловом: „**МОГУЋНОСТ ПРИМЕНЕ ЕКСТРАКТА ЛЕКОВИТОГ И АРОМАТИЧНОГ БИЉА У ПРОИЗВОДЊИ БЕЗАЛКОХОЛНИХ ПИЋА**“ и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати овај извештај и да омогући кандидату њену јавну одбрану.

Чланови Комисије:

Др Бранислав Златковић, редовни професор,
Универзитет у Београду-Пољопривредни факултет

Др Предраг Вукосављевић, ванредни професор,
Универзитет у Београду-Пољопривредни факултет

Др Малиша Антић, ванредни професор,
Универзитет у Београду-Пољопривредни факултет

Др Софија Ђорђевић, научни сарадник
Институт за проучавање лековитог биља „Јосиф Панчић“
Београд

Др Драган Величковић, виши научни сарадник,
професор струковних студија,
Висока пољопривредно-прехранбена школа струковних студија
Прокупље

Прилог:

Из рада је објављен рад у часопису са SCI листе:

Stanisavljević, M.D., Stojičević S.S., Đorđević, M.S., Zlatković, P.B., Veličković, T.D., Karabegović, T.I., Lazić, L.M., (2012): Antioxidant activity, the content of total phenols and flavonoids in the ethanol extracts of *Mentha longifolia* (L.) Hudson dried by the use of different techniques– Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly, 18 (3) 411-42