

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Број захтева: 32/2-7.2.

Датум: 24.11.2021.

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

**за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији
за кандидата на докторским студијама**

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 186/15-пречишћени текст и 189/16), дате сагласност на одлуку о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације:

Кандидат **МИЛАН (Зоран) СТОЈАНОВИЋ**, студент докторских студија на студијском програму Прехрамбена технологија, пријавио је докторску дисертацију под називом: „Обрада ферментисане покожице грожђа као споредног производа у производњи вина у циљу добијања потенцијалних функционалних додатака за прехрамбену индустрију“

из научне области Прехрамбена технологија.

Универзитет је дана 13.12.2017. године, својим актом 02-08 број: 61206-5048/2-17 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: «Обрада ферментисане покожице грожђа као споредног производа у производњи вина у циљу добијања потенцијалних функционалних додатака за прехрамбену индустрију».

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 07.07.2021. године, одлуком Факултета број 32/BC2-4.1. у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област, установа у којој је запослен

1. др Малиша Антић, редовни професор, Хемија, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
2. др Зора Дајић-Стевановић, редовни професор, Пољопривредна ботаника, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
3. др Весна Антић, редовни професор, Хемија, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
4. др Саша Матијашевић, ванредни професор, Посебно виноградарство, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет и
5. др Станислава Горјановић, научни саветник, Биохемија, Универзитет у Београду - Институт за општу и физичку хемију.

Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 24.11.2021. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА
Проф. др Душан Живковић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 32/2-7.2.
Датум: 24.11.2021. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 44. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 24.11.2021. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднео **МИЛАН СТОЈАНОВИЋ, дипл. инж.** и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **«ОБРАДА ФЕРМЕНТИСАНЕ ПОКОЖИЦЕ ГРОЖЂА КАО СПОРЕДНОГ ПРОИЗВОДА У ПРОИЗВОДЊИ ВИНА У ЦИЉУ ДОБИЈАЊА ПОТЕНЦИЈАЛНИХ ФУНКЦИОНАЛНИХ ДОДАТАКА ЗА ПРЕХРАМБЕНУ ИНДУСТРИЈУ».**

II Универзитет је дана 13.12.2017. године, актом 02-08 број: 61206-5048/2-17, дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у научном часопису који га квалификује за одбрану докторске дисертације:

Stojanovic, M., Marinoni, L., Cabassi, G., Antic, M. and Lavelli, V. 2018. Development of Semiliquid Ingredients from Grape Skins and Their Potential Impact on the Reducing Capacity of Model Functional Foods. Journal of Food Quality, 2018, 1-9.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Душан Живковић)

Доставити: кандидату, ментору, Институту за прехранбену технологију и биохемију, Студентској служби и архиви.

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

Датум: 15.09.2021.

Предмет: Извештај Комисије за оцену урађене докторске дисертације Милана З. Стојановића, дипломираног инжењера прехранбене технологије биљних производа

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду број: 32/BC2-4.1. од 07.07.2021. године, именовани смо у Комисију за оцену и одбрану урађене докторске дисертације под насловом: **»Обрада ферментисане покожице грожђа као споредног производа у производњи вина у циљу добијања потенцијалних функционалних додатака за прехранбену индустрију»**, кандидата Милана З. Стојановића, дипломираног инжењера прехранбене технологије биљних производа.

Комисија у саставу др Малиша Антић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Зора Дајић-Стевановић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Весна Антић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Саша Матијашевић, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду и др Станислава Горјановић, научни саветник Института за општу и физичку хемију у Београду, на основу прегледане докторске дисертације подноси следећи:

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација Милана З. Стојановића, дипломираног инжењера прехранбене технологије биљних производа, под насловом „Обрада ферментисане покожице грожђа као споредног производа у производњи вина у циљу добијања потенцијалних функционалних додатака за прехранбену индустрију” написана је у складу са „Упутством о облику и садржају докторске дисертације која се брани на Универзитету у Београду”. Дисертација садржи 105 страна, од којих је 93 нумерисано, и укључује 54 слике, 13 табела и 131 литературни навод.

Докторска дисертација се састоји из: насловне стране на српском и енглеском језику, странице са информацијама о члановима Комисије, 3 стране са изјавама захвалности, странице са сажетком и кључним речима на српском и енглеском језику, приказа садржаја и следећих поглавља: Увод (стр. 1 - 3), Теоријски део (стр. 4 - 23), Научни циљ истраживања (стр. 24 - 25), Материјали и методе (стр. 26 - 45), Резултати и дискусија (стр. 46 - 76), Закључак (стр. 77 - 80), Литература (стр. 81 - 89), Биографија кандидата (стр. 90), Прилози: Изјава о ауторству (стр. 91), Изјава о истоветности

штампане и електронске верзије докторског рада (стр. 92) и Изјава о коришћењу (стр. 93). Поглавља Теоријски део, Материјали и методе и Резултати и дискусија структурирани су кроз више одговарајућих потпоглавља.

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Увод. У овом поглављу указано је на потенцијал и неопходност искоришћавања споредних производа који настају прерадом биљног материјала у прехранбеној индустрији, пре свега у погледу смањења негативног утицаја прерађивачке индустрије на животну средину и повећања одрживости производње. Посебна пажња посвећена је могућности употребе споредних производа винске индустрије, пре свега ферментисане покожице црвеног грожђа, у виду функционалног прехранбеног додатка. У том смислу, истакнут је значај изналажења што ефикаснијих технолошких решења за примену ових споредних производа винске индустрије која, како у свету, тако и код нас показује константну тенденцију раста. Изузетан потенцијал употребе ферментисане покожице грожђа у вези је са високим садржајем полифенолних једињења и биљних влакана у овој сировини, а који данас представљају веома тражене састојке прехранбених производа. Такође, у овом поглављу указано је и на чињеницу да се након издвајања шире током производње вина преостала комина углавном одлаже на отвореним површинама потенцијално узрокујући еколошке проблеме. Закључено је да би одређивање вредности и искоришћавање ових споредних производа имало вишеструке предности.

Теоријски део. У овом поглављу, које је подељено на шест потпоглавља са више подналова, кандидат је дао студиозан приказ досадашњих релевантних литературних података из области које су предмет проучавања ове докторске дисертације. Теоријско поглавље започето је категоризацијом прехранбеног отпада и његовим утицајем на животну средину. Са друге стране, указано је на савремене трендове у исхрани људи и како би се неке од наведених категорија прехранбених губитака могле користити у сладу са тим трендовима. У првом потпоглављу, *Споредни производи прехранбене индустрије*, дат је осврт на последице које носи са собом константно повећање капацитета прехранбене индустрије због раста људске популације, али и све већих захтева потрошача када су квалитет и нутритивна вредност прехранбених производа у питању. Представљен је преглед споредних производа прехранбене индустрије као и досадашњи напори да се они искористе као функционални додаци у формулацијама нових производа. Дат је преглед различитих једињења из споредних производа прехранбене индустрије пореклом од воћа и поврћа. У оквиру истог потпоглавља описане су предности искоришћавања споредних производа прехранбене индустрије, али и изазови са којима се истраживачи сусрећу у погледу развоја решења и унапређења технологија за употребу функционалних једињења из споредних производа. У делу *Споредни производи винске индустрије*, дат је преглед употребе грожђа у прехранбеној индустрији као и приказ главних компоненти споредних производа грожђа, у коме највише има покожице (ферментисане), петелки и семенки. Указано је и на нутритивни састав грожђа и његових споредних производа, пре свега комине. Представљена је и калкулација која показује да се у Србији количина произведене комине као споредног производа винске индустрије процењује између 5000 и 15000 тона годишње, што представља потенцијал вредан пажње. На крају овог потпоглавља дат је преглед производње вина у свету, Европи и у Србији. У делу *Сорте грожђа коришћене у овом истраживању*, кандидат даје информације о сортама црвеног грожђа

коришћеним за потребе експерименталног дела докторске дисертације, као и разлоге за њихов одабир. У оквиру другог потпоглавља, *Функционална једињења споредних производа винске индустрије*, дат је преглед фенолних једињења споредних производа винске индустрије као најбитнијих функционалних једињења. Представљена је њихова класификација и објашњен њихов утицај на органолептичка својства грозђа и споредних производа од грозђа. Посебна пажња дата је најбитнијим класама ових једињења, као што су флавоноиди, флавоноли, флаван-3-оли, антоцијанини, фенолне киселине и стилбени. У трећем потпоглављу, *Активност ензима полифенол оксидаза (PPO) и пероксидаза (POD) у покожицама и грозђу*, указано је на присуство ензима полифенол оксидазе (PPO) и пероксидазе (POD) у покожицама грозђа, као и начин на који ови ензими доводе до погоршања органолептичких особина грозђа, а самим тим и на значај њихове денатурације. У четвртом потпоглављу, *Обрада ферментисаних покожица грозђа*, описан је значај обраде споредних производа винске индустрије у циљу ензимске и микробиолошке стабилизације, што већег степена искоришћења и очувања функционалног потенцијала полазне сировине као и добијања крајњег функционалног прехранбеног додатка одговарајућих физичких особина које му дозвољавају несметано уграђивање у прехранбене формулације. Пето потпоглавље, *Употреба отпада и споредних производа из прехранбене индустрије у производњи хране*, објашњава на који начин треба дизајнирати функционалне прехранбене производе, односно производе обogaћене функционалним прехранбеним додацима пореклом од споредних производа прехранбене индустрије, док се пето потпоглавље, *Потенцијал употребе споредних производа индустрије вина у развоју функционалних додатака за прехранбену индустрију*, фокусира конкретно на употребу покожица грозђа као функционалног прехранбеног додатка. У оквиру шестог потпоглавља, *Електрохидродинамички процеси сулације биоактивних једињења*, кандидат указује на потенцијал употребе електрохидродинамичких процеса у искоришћавању отпадних покожица грозђа, пре свега процеса распршивања честица у електростатичком пољу из разлога што честице добијене поступком електрораспршивања показују одређене карактеристике погодније за употребу у прехранбеној и козметичкој индустрији у односу на друге примењиване технике.

Циљ рада. Основни циљ истраживања ове докторске дисертације био је оптимизација услова обраде ферментисаних покожица грозђа из споредних производа винске индустрије до потенцијалних функционалних прехранбених додатака у прашкастом и полутечном стању. Оптимизација корака обраде покожица грозђа била је базирана на што је могуће већем очувању антиоксидативног потенцијала полазног материјала, уз што мањи утросак енергије и времена обраде. Предложена је и алтернативна употреба отпадних покожица грозђа, нанокапсулацијом екстраката покожица техником електрораспршивања кроз матрицу протеина кукуруза (зеина) као носача.

Материјали и методе. Ово поглавље подељено је у три секције (обзиром да су истраживања спроведена у три различите научне институције и обједињена у овој докторској дисертацији) и два потпоглавља. У потпоглављу *Материјали*, поднаслов *Хемикалије* дати су подаци о произвођачу стандардних једињења употребљених за идентификацију и квантификацију полифенолних једињења од интереса. У поднаслову *Сировине*, дати су подаци о пореклу комина црвеног грозђа коришћених у истраживању, као и њихова примарна припрема и складиштење до момента употребе у истраживању. У другом потпоглављу, *Методе*, дат је детаљан приказ поступака обраде покожице грозђа (ПГ) до финалних производа. Ово потпоглавље подељено је на три

сегмента. Први сегмент, *Развијање технологија обраде ферментисаних ПГ до потенцијалних прашкастих и полутечних додатака за прехранбену индустрију*, укључује целине које описују поступке обраде ферментисане покожице грожђа сорте Барбера (која је била предмет истраживања у оптимизацији технологије коришћења покожице): *Бланирање*, ради постизања ензимске стабилности, *Хомогенизација*, влажним млевењем ради побољшања технолошких параметара, односно побољшања дисперзије ових додатака у матрицу прехранбених производа. У овом делу истакнуто је да је даљи поступак у истраживању настављен са два типа узорака у циљу добијања полутечних производа, односно узорцима са садржајем суве материје од 2% и 10%. Следе поглавља *Пастеризација*, које описује постизање микробиолошке стабилности, поглавље *Сушење у струји загрејаног ваздуха*, пред суво млевање ради добијања прашкастог производа и поглавље *Сушење лиофилизацијом*, ради добијања референтног узорка. Први сегмент такође укључује и поднаслов који описује анализу полазне сировине, међупроизвода и крајњих производа: поднаслов *Садржај влаге, влакана, протеина, угљених хидрата и масти у ферментисаним ПГ*, даје увид у састав полазног материјала, *Одређивање расподеле величине честица*, описује карактеризацију крајњих прашкастих и полутечних производа у погледу расподеле величине честица, *Одређивање активности ензима полифенол оксидазе (PPO) и пероксидазе (POD)*, даје увид у активност ензима након различитих корака обраде и у ефикасност ензимске стабилизације, *Раствор за екстракцију узорака*, приказује припрему раствора за екстракцију полифенолних једињења од интереса, *Фенолна екстракција*, даје увид на начин на који је обављена сама екстракција полифенолних једињења из покожица грожђа, *HPLC карактеризација*, описује протокол према коме је спроведена HPLC карактеризација као и модел апарата на коме је вршена анализа узорака, *Укупан садржај фенолних једињења, садржај растворљивих проантоцијанидина и FRAP тест*, описује протоколе према којима су спроведене дате методе. У оквиру дела *Статистичка анализа*, наведени су статистички модели, тестови и критеријуми примењени за статистичку обраду резултата. Други сегмент, *Оцењивања антиоксидативног потенцијала три широко заступљене сорте грожђа у производњи црвених вина у Србији: Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc и Прокупац*, кандидат даје увид у потенцијал употребе покожице грожђа најшире заступљених сорти винове лозе у производњи црвеног вина у нашој земљи мерењем антирадикалске активности екстракта покожица грожђа помоћу електронске парамагнетне резонантне спектроскопије (ЕПР) и Folin – Ciocâlteu теста и укључује следеће поднаслов: *Припрема узорака за одређивање садржаја укупних полифенола и ЕПР мерења, Одређивање укупног садржаја фенола (Folin – Ciocâlteu тест) и Одређивање антирадикалске активности екстракта покожица грожђа употребом електронске парамагнетне резонантне (ЕПР) спектроскопије*. Трећи сегмент, *Оцењивање способности инкапсулације екстракта покожица грожђа сорте Прокупац и Sangiovese техником електрораспришивања кроз матрицу природног полимера као носача*, даје се увид у припрему екстракта покожица грожђа и одређивање потенцијала алтернативне употребе ферментисаних (споредних производа винске индустрије) и неферментисаних (издвојених из грожђа које је у маркету изгубило органолептичке особине за употребу у свежег стању) покожица грожђа у облику инкапсулисаних нано и микро честица кроз матрикс природног полимерног носача. Овај сегмент укључује следеће поднаслов: *Садржај влаге у ПГ, Припрема узорака, Екстракција, Одређивање садржаја укупних шећера у ПГ и екстрактима методом по Luff-Schoorl-у, Одређивање укупног садржаја фенола (Folin – Ciocâlteu тест) екстракта ПГ и добијених капсула, Одређивање антиоксидативне активности (DPPH и ABTS тест)*. У оквиру дела *Карактеризација полимерних раствора*,

представљене су методе коришћене при одређивању физичко-хемијских карактеристика полимерних раствора у погледу електричне проводљивости, вискозности и површинског напона, док *Инкапсулација електрораспршивањем*, даје увид у оптимизацију инкапсулације електрораспршивањем и одабир полимерног носача. У оквиру овог сегмента представљена је: *Морфолошка анализа добијених капсула помоћу скренирајуће електронске микроскопије (СЕМ), Припрема узорака нанокapsула за анализу, Фуријеова трансформациона инфрацрвена спектроскопија (ATR-FTIR), Термогравиметријска анализа (ТГА), HPLC-MS-MS анализа, Одређивање величине честица*, и поднаслов *Статистичка анализа*, где су описани поступци статистичке обраде резултата овог дела експерименталног истраживања.

Резултати и дискусија. Резултати истраживања подељени су такође у три сегмента и укупно осамнаест потпоглавља. Приказ резултата дат је на прегледан начин кроз графиконе, табеле и јасну текстуалну анализу. Резултати су темељно дискутовани и поређени са резултатима сличних истраживања. У првом сегменту, *Развијање технологија обраде ферментисаних ПГ до потенцијалних прашкастих и полутечних додатака за прехранбену индустрију*, у потпоглављу *Главне компоненте ферментисане покожице грозђа*, дат је садржај главних компоненти влажне, ферментисане покожице грозђа као споредног производа винске индустрије (са садржајем суве материје од 20%): дијететска влакна, 112 ± 2 g/kg; протеини, 18 ± 1 g/kg; пепео, 18 ± 1 g/kg; масти, 15 ± 1 g/kg; растворљиви угљенихидрати, $7,4 \pm 0,2$ g/kg. Када су у питању полифенолна једињења, проантоцијанидини су били преовлађујућа класа са садржајем од $3,5 \pm 0,2$ g/kg. Садржај мономерних флаванола, антоцијанина и флавонола (рачунат као сума садржаја једињења појединачних класа идентификованих HPLC методом) износио је 61 ± 1 , 130 ± 20 , 110 ± 2 mg/kg, респективно. Резултати указују на изражен функционални потенцијал ферментисаних покожица грозђа. У потпоглављу *Активност ензима PPO и POD*, приказано је да се активност ензима у влажној покожици грозђа не може занемарити. Измерена је активност ензима POD од 109 ± 9 nmol гвајакола $\cdot$ g⁻¹ $\cdot$ минут⁻¹ што је у опсегу вредности типичних за воће погођено ензимским тамњењем. Измерена активност ензима PPO влажне покожице грозђа износила је $0,075 \pm 0,001$ $\Delta A_{400nm} \cdot$ g⁻¹ $\cdot$ минут, и била је такође слична вредности добијеној за свежу јабуку која је коришћена као контрола. Добијени резултати указују на неопходност инактивације активности ензима PPO и POD пре употребе ових спорених производа винске индустрије у циљу што боље очуваности садржаја полифенолних једињења. У ту сврху изабран је процес бланширања. У потпоглављу *Бланширање*, приказан је оптимизирани процес бланширања ферментисане покожице грозђа. Резултати указују да након третмана бланширања на 100 степени у трајању од 2 минута није примећена никаква активност ензима PPO и POD, те да је такав материјал погодан за даљу обраду. Потпоглавља *Хомогенизација, Пастеризација и Сушење*, приказују оптимизиране поступке обраде покожице грозђа у процесу добијања крајњих производа у прашкастом и полутечном стању. Након сваког корака обраде извршено је мерење утицаја обраде на очуваност функционалности узорака поређењем FRAP вредности и садржаја полифенолних једињења од интереса са референтним лиофилизованим узорком. Резултати указују да хомогенизација бланшираних узорака покожица грозђа није променила степен очуваности фенолних једињења, осим што је примећен благи пораст степена очуваности мономерних флаванола у бланшираном узорку са 2% с. м., као и антоцијанина и растворних проантоцијанидина у бланшираном узорку са 10% с. м., што није утицало на FRAP вредности. Такође, резултати показују да се након постизања шестостепене децималне редукције циљаног микроорганизма *Alicyclobacillus acidoterrestris* третманом

пастеризације, односно постизања микробиолошке стабилности, садржај фенолних једињења генерално смањено како код узорка са 2% с. м., тако и код узорка са 10% с. м. покожице грозђа. У овом истраживању сушење покожица грозђа у струји ваздуха изведено је на 50 °C у трајању од 3,5 часова. Резултати указују да је наведено сушење узроковало код свих узорака покожица грозђа пад садржаја укупних фенолних једињења, као и садржаја растворљивих проантоцијанидина, антоцијанина и FRAP вредности, са степеном очуваности ових параметара од 85, 80, 70 и 85% у односу на референтни узорак респективно. У потпоглављу *Дистрибуција величине честица*, указано је на дистрибуцију величина честица крајњих производа покожица грозђа у односу на комерцијална влакна пореклом од коре јабуке. Површински пондерисани средњи пречник, тј. D [3,2] за оба крајња производа (2% и 10% с. м. ПГ) износио је 23,8 µm, што је била мања вредност од оне која је примећена код комерцијалног производа од коре јабука. Са друге стране, вредност пречника пондерисаног запреминског момента, то јест D [4,3], за узорак са 10% с. м. ПГ износио је 174 µm, нешто више од узорка са 2% с. м. ПГ, 159 µm, упадајући тако у опсег комерцијалних влакана. Такође, примећен је шири распон дистрибуције величине честица код узорка са 10% с. м. ПГ него код узорка са 2% с. м. ПГ, указујући да је хомогенизација довела до најужег распона дистрибуције величине честица у најразређенијем узорку ПГ. Потпоглавље *Седиментационо понашање*, описује понашање крајњих производа у води. Полутечни производи покожица грозђа формирали су стабилну суспензију у води, док су се прашкасти производи брзо таложили. Резултати указују да полутечни производи могу бити погоднији од прашкастих производа за употребу у полутечним и желираним прехранбеним производима. У потпоглављу *Перспектива примене додатака добијених од покожица грозђа*, описан је потенцијал примене добијених крајњих прашкастих и полутечних производа пореклом од ферментисане покожице грозђа на основу поређења FRAP вредности добијених крајњих производа од покожица грозђа са FRAP вредностима широко коришћених индустријских прехранбених производа. Такође, у овом потпоглављу графички је представљена шема комплетне обраде ферментесиних покожица грозђа као споредних производа винске индустрије до крајњих функционалних прехранбених додатака. У другом сегменту, *Оцењивања антиоксидативног потенцијала три најчешће коришћене сорте грозђа у производњи црвених вина у Србији, Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc и Прокупац*, у потпоглављу *Резултати одређивања укупног садржаја полифенолних једињења*, приказан је садржај полифенолних једињења у екстрактима покожица црвених сорти грозђа највише коришћених у Србији. Садржај полифенолних једињења изражен у g еквивалената галне киселине у 100 g масе узорка. Екстракција је рађена упредо у етанолу и метанолу, а вредности садржаја укупних полифенолних једињења налазиле су се у оквиру вредности добијених за ферментисане покожице грозђа описаних у литератури. На основу добијених резултата може се закључити да генерално етанолни екстракти покожица поседују већи садржај полифенолних једињења у односу на метанолне екстракте. Резултати су показали да је код метанолних екстраката покожица сорте Cabernet Franc регистрован највиши садржај полифенолних једињења, док је код етанолних екстраката то био случај са узорком сорте Прокупац. Истовремено, етанолни екстракт покожица грозђа сорте Прокупац показао је највећи садржај укупних полифенолних једињења од свих узорака. У потпоглављу *Резултати одређивања антирадикалске активности екстраката покожица грозђа употребом електронске парамагнетне резонантне (ЕПР) спектроскопије*, потврђено је да покожице грозђа имају значајан потенцијал употребе у прехранбеној, фармацеутској и козметичкој индустрији, и да не представљају искључиво отпадни производ. У трећем сегменту, *Оцењивање способности инкапсулације екстраката покожица грозђа*

сорт Прокупац и Sangiovese техником електрораспршивања кроз матрицу природног полимера као носача, у потпоглављу *Одређивање садржаја укупних шећера у ПГ и екстрактима методом по Luff-Schoorl-у* измерен је садржај укупних шећера од 51 ± 2 % за неферментисане покожице грожђа сорте Прокупац, односно $< 1\%$ за ферментисане покожице грожђа сорте Sangiovese. У потпоглављу *Скенирајућа електронска микроскопија (СЕМ) и одређивање расподеле величине добијених капсула екстракта ПГ*, дат је увид у припрему узорака за одређивање морфолошких особина и расподеле величине добијених честица. У овом потпоглављу дат је приказ изгледа добијених честица, како честица чистог носача зеина, тако и изгледа инкапсулисаних честица носача зеина са екстрактима ферментисаних покожица грожђа сорте Sangiovese и екстрактима неферментисаних покожица грожђа сорте Прокупац. Није примећена значајна разлика у погледу морфологије и расподеле величине добијених капсула обзиром да су све капсуле показале полусферичан облик, грубу површину и порозну природу са просечном величином честица од око $0,202 \mu\text{m}$ (капсуле зеина $0,225 \pm 0,082 \mu\text{m}$, капсуле зеина са екстрактом ПГ сорте Прокупац $0,180 \pm 0,051 \mu\text{m}$ и капсуле зеина са екстрактом ПГ Sangiovese $0,202 \pm 0,080 \mu\text{m}$). Слични резултати пронађени су и у другој литератури. Потпоглавље *Физичко-хемијска карактеризација полимерних раствора*, даје увид у измерене вредности за вискозност, површински напон и проводљивост полимерних раствора и закључује да су оне биле испод максималних вредности предложених у литератури за успешан процес добијања капсула методом електрораспршивања. У потпоглављу *Одређивање укупног садржаја растворљивих фенола (Folin – Ciocâlțeu тест) и одређивање антиоксидативне активности (DPPH и ABTS тест)*, приказан је садржај укупних растворљивих полифенола који је у екстракту ферментисаних покожица грожђа сорте Sangiovese $5,82 \pm 0,4 \text{ g GAE} / 100 \text{ g с. м.}$, док је у екстракту неферментисаних покожица грожђа сорте Прокупац садржај укупних растворљивих полифенола износио $1,09 \pm 0,0 \text{ g GAE} / 100 \text{ g с. м.}$ Ове вредности налазе у оквиру вредности описаних у литератури. Када су у питању нанокапсуле, садржај укупних растворљивих фенола за капсуле зеина са екстрактом сорте Sangiovese износио је $21,66 \pm 0,1 \text{ g GAE} / 100 \text{ g с. м.}$, док је за капсуле зеина са екстрактом сорте Прокупац износио $16,73 \pm 0,1 \text{ g GAE} / 100 \text{ g с. м.}$ У потпоглављу *Фуријева трансформациона инфрацрвена спектроскопија (FTIR)*, графички су приказани FTIR спектри капсула зеина као носача за инкапсулацију екстракта ПГ, капсула зеина са додатком екстракта покожица грожђа сорте Sangiovese, капсула зеина са додатком екстракта покожица грожђа сорте Прокупац, екстракта покожица грожђа сорте Sangiovese и екстракта покожица грожђа сорте Прокупац. У потпоглављу *Термогравиметријска анализа (TGA)*, графички су приказани TGA спектри капсула зеина, капсула зеина са додатком екстракта покожица грожђа сорте Sangiovese, капсула зеина са додатком екстракта покожица грожђа сорте Прокупац, екстракта покожица грожђа сорте Sangiovese и екстракта покожица грожђа сорте Прокупац. У потпоглављу *LC-MS-MS анализа екстракта ПГ сорти Прокупац и Sangiovese*, дат је увид на присуство укупно 44 анализираних фенолна једињења, а у циљу што детаљније карактеризације екстракта покожица грожђа сорти Прокупац и Sangiovese.

Сви добијени резултати правилно су дискутовани и упоређивани са резултатима сличних истраживања код нас и у свету.

Закључак. У овом поглављу су сумирани најважнији резултати на основу којих су изведени релевантни закључци. Са садржајем дијететских влакана од $112 \pm 2 \text{ g/kg}$ и садржајем полифенолних једињења од преко $3,8 \text{ g/kg}$, влажна, ферментисана покожица грожђа сорте Барбера, као споредни производ винске индустрије, представља вредан

материјал који има потенцијал да обогати велики број категорија индустријски произведених прехранбених производа. У влажној, ферментисаној покожици грожђа измерена је активност ензима полифенол оксидазе и пероксидазе слична активности ових ензима код свеже јабуке што је довело до закључка да је овај материјал неопходно ензимски стабилизovati пре потенцијалне примене као прехранбених додатака. Ради постизања ензимске стабилности, третман бланширања на 100 °C у трајању од 2 минута се показао најефикаснијим. Степен очуваности проантоцијанидина код небланшароних и бланшираних узорака са садржајем суве материје од 2%, након влажног млевења, износио је 50% у односу на референтни, лиофилизован узорак указујући на то да влажно млевење може промовисати формирање проантоцијанидинских комплекса са матрицом покожице грожђа, узрокујући снижење растворљивости. Степен очуваности укупних антоцијанина након бланширања износио је 80%, код оба (2% и 10% с. м. покожица грожђа) узорка, што је било више него код небланшираних покожица грожђа. Микробиолошка стабилност додатака постигнута је третманом пастеризације, односно постизањем шестостепене децималне редукције циљаног микроорганизма *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Резултати одређивања дистрибуције величине честица добијених додатака показала је да су пречници честица оба узорка (2% и 10% с. м.) били нешто мањи од пречника примећеног код комерцијалног производа од коре јабука. Добијени полутечни додаци покожица грожђа показали су стабилну суспензију у води, док су се додаци осушени у струји ваздуха брзо таложили. Према томе, полутечни додаци могу бити погоднији од осушених додатака за употребу у полутечним и желираним прехранбеним производима. Предложена шема обраде ферментисаних покожица грожђа заснована на бланширању, пастеризацији и хомогенизацији ради добијања полутечних додатака за прехранбену индустрију, као и већ предложени поступак за добијање прашкастог додатка сушењем у струји ваздуха и млевењем, резултирала је високим степеном очуваности антиоксидативног потенцијала полазног материјала, са нижим утрошком електричне енергије код полутечног у поређењу са прашкастим производом. Добијени полутечни производи могу да обезбеде повећање редукујућег капацитета (до 10 пута) широком спектру прехранбених производа, укључујући безалкохолна пића, хладне посластице, хлеб и друге пекарске производе. Резултати одређивања садржаја укупних полифенолних једињења и антиоксидативне активности њихових екстраката говоре у прилог томе да покожице грожђа, сорти које су у Србији веома заступљене у производњи црвеног вина, имају значајан потенцијал употребе у прехранбеној и фармацеутској индустрији, и да не представљају искључиво отпадни, споредни производ винске индустрије. На основу добијених резултата, међу овим сортама посебно се истиче српска аутохтона сорта Прокупац. Добијене нанокапсуле нису показале значајну разлику у погледу морфологије и расподеле величине. Све честице су показале просечну величину од око 0,202 μm , полусферичан облик, грубу површину и порозну природу. Измерене вредности вискозности, површинског напона и проводљивости полимерних раствора биле су испод максималних вредности предложених за успешан процес добијања капсула електрораспршивањем. Доказано је да ферментисане покожице грожђа представљају концентрованији извор укупних растворљивих полифенолних једињења од неферментисаних покожица, али да је капацитет пуњења капсула зеина био знатно виши код инкапсулације екстраката неферментисаних покожица. Носач зеина имао је бољу интеракцију са екстрактом сорте Прокупац него са екстрактом сорте Sangiovese. Закључак је кандидата је да би представљање иновативних технологија предложених у овој тези отворило једну потпуно нову димензију у прехранбеној индустрији у Србији која би са собом донела еколошки прихватљиво управљање отпадом уз истовремено подстицање развијања

нових функционалних прехранбених производа и повећање профита. Овај модел еколошког управљања отпадом из индустрије прераде биљних сировина и одрживе производње хране би се уз одређене модификације и прилагођавања могао применити и на друге биљне материјале.

Литература. У дисертацији је на правилан начин наведена 131 референца, углавном из новије иностране литературе, сходно предмету истраживања.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

На основу анализе докторске дисертације под насловом **„Обрада ферментисане покожице грожђа као споредног производа у производњи вина у циљу добијања потенцијалних функционалних додатака за прехранбену индустрију”**, коју је поднео кандидат **Милан З. Стојановић**, дипломирани инжењер прехранбене технологије биљних производа, Комисија сматра да је дисертација урађена према одобреној пријави теме и да представља оригинално и самостално научно дело.

Кандидат је, на основу темељно и систематски истражених литерарних података, дефинисао јасан циљ истраживања, у потпуности остварио предложени програм и одабрао и применио адекватне и савремене експерименталне методе, неопходне за успешну реализацију дисертације. Добијени резултати су анализирани, приказани на правилан и прегледан начин и упоређени са резултатима других аутора. Из резултата су на правилан начин изведени закључци.

Резултати овог истраживања имају научни, али и апликативни значај, јер могу бити примењени у прехранбеној индустрији и развијању различитих функционалних производа. Кандидат је показао да ферментисане покожице грожђа које заостају након производње вина као споредни производи представљају значајан извор биоктивних једињења која поседују потенцијал да обогате многе категорије индустријских прехранбених производа. Ту су у првом реду полифенолна једињења, специјално антоцијани, као и дијететска влакна. Сличан концепт би се могао употребити и код других споредних производа индустрија која се баве прерадом воћа и поврћа, уз развијање и оптимизацију технологија прилагођених специфичностима дате биљне сировине. Поред прашкастог, предложена је и примена полутечног додатка пореклом од покожица грожђа што није раније није било разматрано у научној литератури. Кандидат је показао да полутечни додаток може бити добра алтернатива прашкастом производу.

Значајан допринос ове дисертације је представљање целокупне шеме обраде ферментисане покожице грожђа као споредног производа винске индустрије до ензимски и микробиолошки стабилизованих, функционалних додатака за прехранбену индустрију. Уз то, валоризован је и значај аутохтоних сорти и њихових споредних производа, посебно у светлу иновативних технологија инкапсулације, као што је електроспрашивање кроз матрицу протеина кукуруза, зеина, као носача.

На основу свега изнетог, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију Милана З. Стојановића, дипломираног инжењера прехранбене технологије биљних производа, под насловом **„Обрада ферментисане покожице грожђа као споредног производа у производњи вина у циљу добијања потенцијалних функционалних**

додатака за прехранбену индустрију”, и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцену и омогући кандидату јавну одбрану пред Комисијом у истом саставу.

У Београду, 15.09.2021. године

Чланови комисије:

Др Малиша Антић, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Хемија
(Ментор 1)

Др Зора Дајић-Стевановић, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Пољопривредна ботаника
(Ментор 2)

Др Весна Антић, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Хемија

Др Саша Матијашевић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Посебно виноградарство

Др Станислава Горјановић, научни саветник
Универзитет у Београду - Институт за општу и
физичку хемију
Ужа научна област: Биохемија

Прилог:

Рад Милана З. Стојановића, дипломираног инжењера прехранбене технологије биљних производа, објављен у научном часопису који је на SCI листи:

Stojanovic, M., Marinoni, L., Cabassi, G., Antic, M. and Lavelli, V. 2018. Development of Semiliquid Ingredients from Grape Skins and Their Potential Impact on the Reducing Capacity of Model Functional Foods. *Journal of Food Quality*, 2018, 1-9.

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

Датум: 15.09.2021.

**ОЦЕНА ИЗВЕШТАЈА О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСKE
ДИСЕРТАЦИЈЕ**

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације **„Обрада ферментисане покожице грожђа као споредног производа у производњи вина у циљу добијања потенцијалних функционалних додатака за прехранбenu индустрију”**, аутора **Милана З. Стојановића**, дипломираног инжењера прехранбене технологије биљних производа, констатујемо да утврђено подударање текста износи 5%. Овај степен подударности последица је цитата, назива и личних имена, библиографских података о коришћеној литератури и тзв. општих места и података, што је у складу са чланом 9. Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујем да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

У Београду, 15.09.2021. године

Ментори:

Др Малиша Антић, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет
ужа научна област: Хемија
(Ментор 1)

Др Зора Дајић-Стевановић, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет
ужа научна област: Пољопривредна ботаника
(Ментор 2)