

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ
Дајна Хрњез, дипл.инж.-мастер

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
1. Датум и орган који је именовao комисију 22.05.2015., Наставно–научно веће Технолошког факултета у Новом Саду
2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен: 1. Др Спасенија Милановић , редовни професор, Технологије конзервисане хране, 04.05.2004., Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад; 2. Др Маријана Царић , професор емеритус Технологије конзервисане хране, 24.09.2008., Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад 3. Др Александра Торбица , научни саветник, Прехрамбено инжењерство, 25.09.2013., Институт за прехрамбене технологије, Нови Сад, Универзитет у Новом Саду 4. Др Мирела Иличић , доцент, Технологије конзервисане хране, 01.10.2012., Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад;
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
1. Име, име једног родитеља, презиме: Хрњез(Вукота) Дајана
2. Датум рођења, општина, држава: 29.03.1985.Мостар, Босна и Херцеговина
3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Технолошки факултет Нови Сад , Биотехнологија, дипломирани инжењер-мастер
4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2009., прехрамбено инжењерство, доктор технолошких наука
5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: –
6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: –
III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ: Биолошка активност ферментисаних млечних напитака добијених применом комбухе и конвенционалних стартер култура

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Докторска дисертација садржи шест поглавља:

1. Увод (стр. 1-3),
2. Преглед литературе (стр. 3-57);
3. Материјал и методи (стр. 57-70);
4. Резултати и дискусија (стр. 70-126);
5. Закључци (стр. 126-129);
6. Литература (стр. 129-149).

Дисертација је написана на 149 страна, А4 формата, садржи 42 слике, 42 табеле и 243 литературна навода. На почетку је дата кључна документација са изводом на српском и енглеском језику.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Увод указује на производњу и нутритивну вредност широког асортимана ферментисаних млечних производа са посебним нагласком на функционалне ферментисане млечне производе. Истакнути су биоактивни пептиди као носиоци великог броја функционалних карактеристика коначног производа, њихов значај, настанак и улога протеолитичке активности стартер културе у њиховом формирању током процеса ферментације млека. Такође, представљене су могућности коришћења неконвенционалних стартер култура, као што је комбуха у производњи функционалних ферментисаних млечних производа побољшаних нутритивних и функционалних својстава. Указано је на већ научно доказану биолошку активност комбуха чајног напитка, као и на потребу истраживања ефеката комбухе на формирање биолошки активних компонената током ферментације млека. На крају увода дати су предмет и циљ истраживања у оквиру дисертације. Генерално посматрано може се констатовати да је у уводу јасно и концизно дефинисан циљ истраживања који не одступа од формулација датих у пријави докторске дисертације.

Општи део дисертације приказује најновија научна сазнања у испитиваној области и састоји се из седам одвојених поглавља. У првом поглављу дат је преглед нутритивне вредности млека и млечних производа са посебним описом најновијих научних сазнања о макро и микрокомпонентама млека. У другом поглављу представљена је основна класификација ферментисаних млечних производа као и различитих стартер култура и њихове улога у креирању аутентичности и специфичности ферментисаних млечних производа. У трећем поглављу приказане су биохемијске трансформације компонената млека и настанак функционалних компонената. Детаљно је описан механизам настанка биоактивних пептида, њихова подела, структура и функција у четвртном поглављу. Такође дат је и преглед основних биоактивних пептида различите биолошке активности (антиоксидативне, антихипертензивне, антиканцерогене), као и њихова заступљеност у комерцијалним ферментисаним млечним напцима. У петом поглављу издвојен је преглед актуелних истраживања на пољу антиоксидативне активности ферментисаних млечних производа са посебним истицањем активних компонената. На овај део се као шесто поглавље, наставља преглед важећих сазнања о здравственим бенефитима ферментисаних млечних напитака у поређењу са млеком, са посебним акцентом на њихов утицај на гастроинтестинални тракт, апсорпцију минерала, нетолеранције на лактозу и антиканцерогено дејство.

У седмом поглављу дат је актуелни преглед литературних података о комбухи, микробиолошком саставу, функционалним карактеристикама и биолошком потенцијалу. Посебно је дат преглед резултата досадашње примене комбухе у технологији ферментисаних млечних напитака.

На основу приказаних литературних података може се закључити да су истраживања могућности развоја функционалних производа и продукције биоактивних пептида и других биолошки активних једињења, веома актуелна, те су истраживања употребе комбухе као неконвенционалне стартер културе у добијању функционалних ферментисаних млечних производа изабрана за предмет истраживања ове докторске дисертације.

У поглављу **Материјал и методи рада** дат је детаљан опис материјала и метода примењених у експерименталном раду. На почетку је дат приказ сировина: млека и стартер култура (инокулум комбухе, јогуртна и пробиотска стартер култура) коришћених за производњу ферментисаних млечних напитака. Потом је описан поступак производње ферментисаних млечних напитака. Такође, детаљно су описане и методе примењене у експерименталном раду коришћене за: анализу физичко–хемијског квалитета млека и ферментисаних млечних напитака (рН вредност, млечна маст, сува материја и пепео), садржаја шећера, минералних материја, састава масних киселина, биогених амина, одређивања степена протеолизе, одређивања антиоксидативне активности, инхибиторне активности ангиотензин I конвертујућег ензима (АКЕ I). Описане су и методе одређивања текстуралних карактеристика, вискозитета и инструменталног одређивања боје, као и поступак сензорног оцењивања производа. За статистичку обраду експерименталних резултата коришћени су савремени софтверски програми, а резултати су обрађени на адекватан и валидан начин.

Поглавље **Резултати и дискусија** подељено је у шест целина, садржи 42 табеле и 42 слике, а редослед приказаних резултата прати ток истраживања. У првом експерименту урађена је компаративна ферментација млека применом комбуха стартер културе на две различите температуре, 37°C и 42°C. На основу приказаних физичко-хемијских карактеристика и протеинског профила добијених напитака одабрана је оптимална температура ферментације за наставак истраживања, т.ј реализацију експеримента II. У другом експерименту приказани су резултати физичко-хемијских карактеристика сировина и ферментисаних млечних напитака добијених применом три различита стартера на одабраној температури ферментације 42°C. Потом следи приказ и интерпретација резултата промена компонената млека током процеса ферментације деловањем различитих стартер култура на карактеристичним одабраним тачкама ферментације све три врсте анализираних производа. Посебно је приказана промена степена протеолизе применом две различите методе анализе: TCA и SDS PAGE капиларна електрофореза . У наставку приказани су резултати промена масних киселина, биогених амина, шећера, витамина C и минерала, ферментисаних млечних напитака током 21 дан складиштења. Пети део приказује резултате утицаја различитих стартер култура на биолошку активност, антиоксидативну и АКЕ I инхибиторну активност ферментисаних млечних напитака током складиштења, при чему су у интерпретацији добијених резултата коришћени резултати промена биоактивних компонената приказаних у четвртном делу. Шести део истиче компаративне реолошке карактеристике вискозитета и текстуре ферментисаних млечних напитака током 21 дан складиштења. У последњем, седмом делу истакнуте су промене сензорних карактеристика анализираних производа током складиштења укључујући сензорну оцену и инструментално одређену боју. Резултати су приказани у виду одговарајућих дијаграма, хистограма, графички и табеларно и дискутовани на одговарајући начин. У анализи и тумачењу добијених резултата кандидат је веома успешно поредио сопствене резултате са релевантним подацима из цитиране литературе.

У поглављу **Закључци**, на основу добијених резултата и дискусије закључци су јасно и концизно изведени, те се могу сматрати поузданим и научно заснованим и одговарају постављеном циљу дисертације.

Поглавље **Литература**, садржи списак 243 референце цитиране на уобичајен и правилан начин. Избор референци је актуелан и примерен тематици која је предмет ове дисертације.

VII ZAKЉUČCI OДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу спроведених истраживања и приказаних резултата у овој докторској дисертацији могу се изнети следећи закључци:

- ✓ Ферментација млека са 2,8% млијечне масти примјеном 10% инокулума комбухе на температури 42 °C трајала је 7 часова и 45 минута, док је додатком пробиотске и јогуртне стартер културе овај процес знатно краћи и траје свега 4 сата. Нису констатоване статистички значајне разлике у садржају основних компонената ферментисаних млечних напитака на различитим температурама ферментације као ни употребом различитих стартер култура .
- ✓ Током процеса складиштења садржај калцијума, натријума и калијума у узорцима добијеним применом комбухе и комерцијалних стартер култура опада.
- ✓ Највећи садржај витамина Ц након производње и 14 дана складиштења имали су узорци са комбуха стартер културом ($0,546 \pm 0,017 \text{ mg}100\text{g}^{-1}$), док су узорци са пробиотском и традиционалном јогуртном стартер културом садржали $0,440 \pm 0,014 \text{ mg}100\text{g}^{-1}$ и $0,408 \pm 0,013 \text{ mg}100\text{g}^{-1}$, редом.
- ✓ Протеински профил добијен методом капиларне електрофорезе показује да постоји статистички значајна разлика у променама удела појединачних протеинских фракција током процеса ферментације млека применом комбухе као и комерцијалних стартер култура. Тренд промена појединачних фракција је у складу са резултатима степена протеолизе добијених применом ТСА методе. Током периода од 21 дана складиштења бржа постапидификација и већи степен протеолизе забележен је у узорцима добијеним употребом пробиотске, него у узорцима добијеним коришћењем комбуха и јогуртне стартер културе.
- ✓ Током ферментације у свим варијантама ферментисаних млечних напитака палмитинска киселина је доминантна засићена масна киселина са максималним садржајем од 31,73% у јогурту (J), 32,70% у пробиотском јогурту (II) и 33,28% у комбуха ферментисаном млечном напитку (K), док је олеинска киселина најзаступљенија незасићена масна киселина са максималним вредностима од 27,30% (J), 26,89% (II) и 25,80% (K), редом. Током складиштења у комбуха ферментисаном млечном напитку као и напицима добијеним са јогуртном и пробиотском стартер културом долази до пораста засићених и опадања моно- и поли- незасићених масних киселина. Доминантне су киселине дугог ланца са укупним уделом око 45%, чији се састав значајно не мења током 21 дан складиштења.
- ✓ Биогени амини: триптамин, фенилетиламин, путресцин, кадаверин, хистамин, серотонин, тирамин, спермидин и спермин нису детектовани током складиштења ни у једној групи произведених напитака. Добијени резултати су додатни показатељ квалитета ферментисаних млечних производа, с обзиром да се садржај биогених амина може да користи као индикатор безбедности производа.
- ✓ Различите стартер културе утичу на различиту АКЕ инхибиторну активност током складиштења што указује на различиту протеолитичку активност стартер култура и њихову способност да хидролизом протеина млека производе широк спектар различитих функционалних пептида, а између осталих и оних са АКЕ инхибиторном активношћу. Непосредно након производње, АКЕ инхибиторна активност комбуха ферментисаног млечног напитка је значајно мања ($46,27 \pm 0,69 \%$; $p < 0,05$) у поређењу са јогуртом и пробиотским јогуртом ($48,48 \pm 0,72$ и $51,70 \pm 1,03 \%$, редом). У свим узорцима, анализирана инхибиторна активност расте током 14 дана складиштења, при чему узорци произведени применом комбухе имају највећу АКЕ инхибиторну активност - 79,4%, док су у јогурту и пробиотском јогурту те вредности износиле 63,4 и 64,6%, редом.
- ✓ Антиоксидативна активност (АА) односно способност хватања слободних радикала, водених екстраката ферментисаних млечних напитака, испитана је на АВТS⁺ и DPPH радикале. Обе анализе указују на могућност супстрата да донира електроне или Н атоме у слободнорадикалским реакцијама. Комбуха ферментисани млечни напиток је имао значајно већу ($p < 0,05$) активност након производње ($17,88 \pm 0,17 \%$) у односу на јогурт и пробиотски јогурт ($9,46 \pm 0,3$ и $13,23 \pm 0,04 \%$, редом). Комбуха стартер култура повећава способност напитка да стабилизује DPPH радикале током складиштења највећим делом

захваљујући сопственом антиоксидативном капацитету. Највећи антиоксидативни потенцијал методом ABTS⁺ слободно радикалске инхибиције имали су узорци са јогуртном стартер културом након 21 дан складиштења (TEAC вредност је износила 8,92 ммолмг⁻¹). Добијени резултати антиоксидативне активности ферментисаних млечних напитака мерене ABTS⁺ и DPPH тестом указују на значајан утицај употребљене стартер културе. Непостојање корелације између антиоксидативне активности и степена протеолизе указује на то да биоактивни пептиди нису једини носиоци укупне испитиване антиоксидативне активности, или се пак не налазе у концентрацијама у којима би имали значајнији утицај на AA испитиваних екстраката. Ови резултати такође указују на већу адекватност ABTS⁺ методе за мерење антиоксидативне активности ферментисаних млечних напитака у односу на DPPH метод.

- ✓ Реолошке и текстуралне карактеристике узорака у корелацији су са резултатима сензорне анализе.
- ✓ Резултати инструменталног одређивања боје указују на статистички значајан ($p \leq 0,05$) утицај комбинације фактора стартер култура и време складиштења на параметре боје. Инструменталном анализом боје према CIE L*a*b* систему вредност психометријске светлости, L*се није значајно мењала током периода складиштења, али је била значајно већа код узорака са јогуртном и пробиотском стартер културом, док вредности психометријске zasiћености (хрома) параметра b* указују на доминатност жуте нијансе у свим узорцима. Након 21 дана складиштења укупна промена боје износила је 0,412, 0,485 и 0,498 за јогурт, пробиотски јогурт и комбуха ферментисаног млечног напитка, редом.
- ✓ На основу добијених резултата биолошке активности и промена квалитета комбуха ферментисаног млечног напитка током складиштења, у односу на карактеристике производа добијених употребом конвенционалних стартер култура може се објаснити оправданост употребе комбуха стартер културе у ферментацији млека са циљем добијања новог функционалног ферментисаног млечног производа високог садржаја биоактивних компонената, карактеристичних нутритивних, реолошких и сензорних особина.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Кандидат Дајана Хрњез дипл. инж.-мастер у потпуности је обавила истраживања која су била предвиђена планом у пријави ове дисертације. Добијени резултати су проистекли из оригинално постављених експеримената у циљу утврђивања утицаја неконвенционалног стартера комбухе на биолошку активност и промене квалитета комбуха функционалног ферментисаног млечног напитка током складиштења, као и разлика у односу на производе добијене употребом конвенционалних стартер култура. Резултати истраживања су систематично и прегледно приказани, а дискусија заснована на добром познавању истраживане научне области и на најновијим научним сазнањима, те се начин приказа и тумачења резултата истраживања оцењује позитивно.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

Дисертација је написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Дисертација садржи све битне елементе.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Дисертација представља оригиналан допринос науци, јер је на научној основи утврђен утицај неконвенционалног стартера комбухе на промене биоактивних компонената и биолошке

активности ферментисаних млечних напитака током складиштења који до сада није испитиван. Такође, научни допринос представљају и резултати компаративних истраживања утицаја комбуха стартера и конвенционалних стартер култура, јогуртне и пробиотске, на биолошки потенцијал и укупан квалитет производа током складиштења. Праћењем промена биолошки активних компонената, као и сензорних и текстуралних карактеристика током складиштења утврђени су параметри квалитета који су носиоци функционалних особина новог, комбуха ферментисаног млечног производа. Тиме су ова истраживања дала допринос могућем проширењу асортимана ферментисаних млечних производа на тржишту применом комбухе као нове стартер културе. Потврда оригиналности докторске дисертације су и публикавање резултата истраживања у два научна рада у часописима са СЦИ листе.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

Недостаци дисертације нису уочени.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију Дајане Хрњез, дипл. инж - мастер, под називом: Биолошка активност ферментисаних млечних напитака добијених применом комбухе и конвенционалних стартер култура и предлаже да се прихвати ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ, а кандидату одобри одбрана рада.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Др Маријана Царић, професор емеритус
Универзитет у Новом Саду
председник

Др Спасенија Милановић, редовни професор
Технолошки факултет Нови Сад
Универзитет у Новом Саду
ментор

Др Александра Торбица, научни саветник,
Институт за прехранбене технологије, Нови Сад
Универзитет у Новом Саду
члан

Др Мирела Иличић, доцент
Технолошки факултет Нови Сад
Универзитет у Новом Саду
члан

