

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ		
1. Датум и орган који је именовео комисију: 03.09.2021. године, Наставно-научно веће Технолошког факултета Нови Сад		
2. Састав комисије у складу са <i>Правилима докторских студија Универзитета у Новом Саду</i> :		
1. др Весна Тумбас Шапоњац	Ванредни професор	Технолошко- инжењерске хемије, 01.08.2017. године
презиме и име	звање	ужа научна област и датум избора
Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад,		Председник
установа у којој је запослен-а		функција у комисији
2. др Љиљана Поповић	Ванредни професор	Технолошко- инжењерске хемије, 01.10.2017. године
презиме и име	звање	ужа научна област и датум избора
Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад,		Ментор
установа у којој је запослен-а		функција у комисији
3. Др Јадранка Фрај	Доцент	Фармацеутско инжењерство, 01.10.2017. године
презиме и име	звање	ужа научна област и датум избора
Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад,		Члан
установа у којој је запослен-а		функција у комисији
4. Др Тамара Дапчевић Хаднађев	Виши научни сарадник	Област биотехничких наука- прехрамбено инжењерство, 30.09.2019. године
презиме и име	звање	ужа научна област и датум избора
Универзитет у Новом Саду, Научни институт за прехрамбене технологије Нови Сад,		Члан
установа у којој је запослен-а		функција у комисији
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ		
1. Име, име једног родитеља, презиме: Јелена, Цвјетко, Чакаревић		
2. Датум рођења, општина, држава: 30.07.1991. године, Добој, РС БиХ		
3. Назив факултета, назив претходно завршеног нивоа студија и стечени стручни/академски назив: Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад, Фармацеутско инжењерство, мастер инжењер технологије		

4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија:  
2015. година, Фармацеутско инжењерство

**III НАСЛОВ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

*In vitro* дигестија и њен утицај на активност, стабилност и доступност биолошки активних једињења.

**IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

Навести кратак садржај са знаком броја страница, поглавља, слика, схема, графикона и сл.

Докторска дисертација је написана на српском језику, латиничним писмом, на 167 страна А4 формата, са 44 слика, 20 табела и 249 литературна навода.

Садржај дисертације подељен је у 7 поглавља на следећи начин:

1. Увод (стр. 1-3)
2. Циљеви истраживања (стр. 4-6, 1 слика)
3. Преглед литературе (стр. 7-42, 8 слика, 2 табеле)
4. Материјал и методе (стр. 43-61, 1 слика, 1 табела)
5. Резултати и дискусија (стр. 63-128, 34 слика, 17 табела)
6. Закључци (стр. 132-137)
7. Литература (стр. 138-162)

Дисертацију чине и садржај, кључна документацијска информација са сажетком на српском и енглеском језику.

## V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У **Уводу** докторске дисертације указано је на потребе модела *in vitro* дигестије у циљу испитивања сварљивости и доступности биоактивних једињења и њихове „судбине“ након проласка кроз дигестивни тракт. Укратко су описани разлози и потребе који доводе до развијања и увођења *in vitro* дигестије као модела који се користе у експерименталне сврхе. Протеини, као једни од главних нутријената хране приказани су и окарактерисани као у различитим формулацијама са аспекта *in vitro* дигестије доступности биоактивних једињења. Акцент је дат на значају у проналажењу алтернативних извора протеина попут биљних протеина из нуспроизвода индустрије као замене за протеине животињског порекла. Примена протеина је описана кроз неколико аспеката: као извора и носача биоактивних једињења и као функционалног додатка за производе прехранбене индустрије са циљем обogaћења и добијања нових производа побољшаних особина. У поглављу **Циљ истраживања** дефинисане су фазе експерименталног дела докторске дисертације.

**Преглед литературе** подељен је у пет целина.

У првој целини, кроз литературни преглед кандидат описује *in vitro* дигестију као модел систем који се користи за симулирање гастроинтестиналног тракта човека и онога што се дешава када храна или њени нутријенти прођу кроз такав систем. Детаљно су описане све фазе *in vitro* дигестије, ензими који се користе, као и потребе за испитивањем доступности једињења након дигестије. Указана је примена ових модела за испитивање сварљивости како нутријената хране тако и матрикса у које се уграђују и њихових финалних производа.

Друга целина обухвата приказ протеина као једних од главних нутријената хране, њихову класификацију и поступак изоловања из алтернативних извора. Описани су биљни протеини који имају велики потенцијал као замена за протеине животињског порекла. Посебна пажња посвећена је описивању функционалних особина протеина и њиховог унапређења модификовањем структуре протеина. Изабрана метода модификовања протеина јесте коњугација протеина са полифенолима. Кроз литературне наводе приказане су различити поступци реакција коњугације који доводе до унапређења функционалних особина протеина, попут растворљивости, емулзионих особина, гелирајућих и механичких својства, итд.

У оквиру треће целине, описани су протеини са аспекта њихове примене као извора биоактивних једињења. Наведени су начини добијања протеинских хидролизата који поседују различите биолошке активности као што су антиоксидативна, антихипертензивна и антидијабетска које су и описане у овој целини.

Четврта целина приказује преглед протеина као носача у инкапсулацији биоактивних једињења, њихове предности у односу на синтетске носаче и досадашњу примену у инкапсулацији различитих форми биоактивних једињења.

У петој целини приказан је потенцијал протеина за уградњу у различите матриксе са циљем креирања прехранбених производа побољшаних биолошких, сензорних и органолептичких особина, који могу имати позитиван утицај на здравље.

У поглављу **Материјал и методе** наведени су подаци о примењеним сировинама и хемикалијама које су коришћене за добијање протеинских изолата. Описане су методе добијања узорака, начин њиховог чувања и карактеризације кроз различите методе. Детаљно су описане методе: *in vitro* дигестије, карактеризације узорака кроз функционалне и физичке карактеристике, аналитичке методе за испитивање биоактивности узорака, као статистичка обрада експерименталних података.

**Резултати и дискусија** су поглавље које се састоји из три целине, које сумира резултате добијене кроз експериментални део дисертације. У првој целини дефинисане су уљане погаче, нуспроизвод који заостаје након цеђења уља, као добар извор протеина одређивањем хемијског састава и уделом протеина. Добијеним протеинским изолатима одређен је аминокиселински састав и испитане су неке функционалне особине, као што су растворљивост, емулзионе особине, капацитет везивања воде и уља и способност стварања пене. Протеински изолат шљиве одабран је за коњугацију са кафеном киселином у циљу унапређења његових функционалних особина због потенцијалне примене у неке од производа на бази емулзија. Сварљивост протеинских изолата и коњугата одређена је применом метода *in vitro* дигестије прилагођених врстама узорка који су испитивани. Поред тога, извршена је анализа биоактивних особина насталих хидролизатата. У другој целини, окарактерисани су резултати који описују понашање протеинског изолата тикве као носача у инкапсулацији биоактивних једињења. Кроз низ метода извршена је карактеризација

добијених инкапсулата и утврђен је њихов потенцијал као функционалног производа. Методом *in vitro* дигестије показано је да инкапсулати имају добру сварљивост. Трећа целина односи се на уградњу протеинских формулација (инкапсулата) у изабран прехранбени матрикс (кекс) са циљем креирања унапређеног прехранбеног производа са биоактивним особинама. Једна од особина које поседују овако креирани производи јесте нижи гликемијски индекс у односу на референтни узорак кекса са белим брашном. Такође, акценат је на стављен на сварљивост добијеног производа која је испитана применом методе *in vitro* дигестије. Добијени хидролизати показују низбиолошких особина које могу имати позитиван утицај на здравље човека.

У поглављу **Закључци**, систематизовани су општи закључак и специфични закључци који су концизни и разложно изведени из резултата и њихове дискусије, а у складу са постављеним општим и специфичним циљевима ове докторске дисертације.

Поглавље Литература садржи 233 литературна навода, који су прегледно систематизовани и цитирани на уобичајен и правилан начин. Изабране референце су референтне, актуелне и примерене проучаваној тематици.

Поред наведених поглавља дисертацију чине и Садржај, Списак скраћеница, као и Кључна документацијска информација са сажетком на српском и енглеском језику и Биографија кандидата.

## **VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ:**

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у складу са *Правилима докторских студија Универзитета у Новом Саду* који је повезан са садржајем докторске дисертације. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду уредника часописа о томе.

#### **M21 Рад у врхунском међународном часопису**

- **Čakarević J.**, Vidović S., Vladić J., Gavarić A., Jokić S., Pavlović N., Blažić M., Popović Lj.: Production of bio-functional protein through revalorization of apricot kernel cake, *Foods*, 2019, 8, 318.

#### **M22 Рад у истакнутом међународном часопису**

- Popović Lj., Stolić (Vaštag) Ž., **Čakarević J.**, Torbica A., Tomić (Mihic) J., Šijački M.: Biologically Active Digests from Pumpkin Oil Cake Protein: Effect of Cross-linking by Transglutaminase, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 2017, Vol. 94, pp 1245-1251, ISSN 0003-021x
- **Čakarević J.**, Šeregelj V., Tumbas Šaponjac V., Četković G., Čanadanović Brunet J., Popović S., Hadnađev Kostić M., Popović Lj.: Encapsulation of beetroot juice: a study on the application of pumpkin oil cake protein as new carrier agent, *Journal of Microencapsulation*, 2020, Vol. 37 (2), 121-133
- **Čakarević J.**, Torbica A., Belović M., Tomić J., Sedlar T., Popović Lj.: Pumpkin oil cake protein as a new carrier for encapsulation incorporated in food matrix: Effect of processing, storage and *in vitro* digestion on bioactivity, 2021, *International Journal of Food Science and Technology*.

#### **M24 Рад у часопису међународног значаја верификованог посебном одлуком**

- **Čakarević J.**, Vidović S., Vladić J., Jokić S., Pavlović N., Popović Lj.: Plum oil cake protein isolate: a potential source of bioactive peptide, *Food and Feed Research*, 2019, 46 (2), 171-178.

Поред приказаних објављених радова резултати који описују експериментални део дисертације објављени су на неколико међународних и националних конгреса.

#### **VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА:**

Главни циљ докторске дисертације је примена методе *in vitro* дигестије у циљу испитивања сварљивости и доступности биолошки активних једињења протеинског порекла из хране и њених компоненти. Акцент је стављен на валоризацију нуспроизвода индустрије уља у циљу добијања протеинских изолата који представљају нови извор протеина. Добијени протеински изолати испитани су кроз три аспекта: (I) протеини као извори биолошки активних једињења, (II) протеини као носачи у инкапсулацији биоактивних једињења и (III) уградња протеинских формулација у различите матриксе у циљу креирања прехранбених производа унапређених биолошких, нутритивних и текстурних особина.

На основу резултата истраживања у примени протеина као извора биолошки активних једињења изведени су следећу закључци:

- Из уљаних погача заосталих након хладног цеђења уља и суперкритичне екстракције добијени су протеински изолати са високим садржајем протеина (од 71% до 99%). Добијени резултати указују да врста уљане погаче нема велики утицај на добијање протеинског изолата.
- Према резултатима протеински изолати имају прихватљив аминокиселински састав са садржајем есенцијалних масних киселина од око 13%, што указује на добар потенцијал у замену за протеине животињског порекла. На основу резултата сви протеински изолати су безбедни са јако малим садржајем амигдалина или испод границе детекције, што је у складу са правилницима о безбедности хране.
- Добијени протеински изолати показали су добре функционалне особине које су унапређене модификацијом протеина у процесу коњугације са кафеном киселином.
- Сварљивост протеинских изолата испитана је методом *in vitro* дигестије, хидролизом пепсином и панкреатином при одређеним условима који симулирају дигестивни тракт човека. Показују значајну сварљивост већ након хидролизе пепсином, са степеном хидролизе од 42% до 56%.
- Осим побољшаних функционалних особина коњугати су показали да су сварљиви, али у значајно мањем степену у односу на нативни протеин. Вредност степена хидролизе коњугата је око 20%, док код нативног протеина шљиве иде до 39%. Смањена сварљивост коњугата може бити последица стварања већих структура услед везивања протеина и полифенола и тиме су пептидне везе мање доступне ензимима.
- Добијеним хидролизатима протеинских изолата након *in vitro* дигестије показују одређене

биолошке активности: антиоксидативну активност, инхибиције ензима  $\alpha$ -глюкозидазе и АЦЕ. Овакви резултати показују да су добијени протеински изолати погодни извори биолошки активних хидролизата.

- Након *in vitro* дигестије коњугата показана је њихова сварљивост као и доступност биоактивних једињења која показују значајну антиоксидативну активност која потиче од пептида који се ослобађају из присутног протеина и полифенола.

На основу резултата истраживања у примени протеина као носача у инкапсулацији биоактивних једињења могу се извести следећи закључци:

- Инкапсулација сока цвекле на РИ тикве рађена је применом метода *freeze* и *spray drying*. За *freeze drying* технику ефикасност инкапсулације износи 92%, док је за *spray drying* 75%. Резултати показују да протеинаки изолат тикве може да буде носач у инкапсулацији биоактивних једињења ради њихове заштите од утицаја средине.

- Боја добијених инкапсулата у зависности од примењен технике се у потпуности разликује. Инкапсулати добијени *freeze drying* техником задржавају црвену боју ( $a^*=13,38$ ) која потиче од беталаина пигмената цвекле. *Spray drying* техника даје инкапсулате који имају мању вредност параметра  $a^*=1,47$  што потврђује да је дошло до губитка црвених пигмената у инкапсулату, а израженију појаву жутих подтонова ( $b^*=23,91$ ).

- Испитивање морфолошких структура инкапсулата показано је да се инкапсулати према техници добијања потпуно разликују.

- Активност воде за оба инкапсулата је мања од 0,2 што потврђује микробиолошку стабилност ових производа. Садржај воде износи око 6% што је у оквиру вредности које потврђују квалитет ове врсте производа. Велика растворљивост је такође један од доказа да овакав производ може да се користи као функционални производ.

- *In vitro* дигестија инкапсулата показују њихову сварљивост након проласка кроз дигестивни тракт али у мањем степену у односу на сам протеински изолат тикве. Добијени резултати показују да су овако припремљени инкапсулати сварљиви и као такви погодни за примену као додаци храни или суплементи. То доказује и доступност биолошки активних компоненти након *in vitro* дигестије инкапсулата. Доступност фенола износи (од 22% до 37%), док је доступност беталаина мања (од 10% до 13%).

- Такође, показано је да ови хидролизати показују антиоксидативну активност, као и инхибицију ензима  $\alpha$ -глюкозидазе и АЦЕ.

На основу резултата истраживања у примени протеинских формулација као функционалног додатка у матрикс са циљем креирања продукта унапређених биолошких, сензорних и текстурих особина могу се извести следећи закључци:

- У креирању новог функционалног производа побољшаних биолошких особина извршена је супституција брашна са инкапсулатима на три нивоа. Обогаћивање кексића одразило се на бољи проценат ширења теста што је пожељно својство у индустрији печења, док се по физичким параметрима не разликују значајно у односу на контролни кекс.

- Кексићи са инкапсулатима имају изражену црвенкасту боју која потиче од црвених пигмената сока цвекле, што показују високе вредности параметра  $a^*=14-18$ .

- Према резултатима сензорне оцене обогаћених кексића, значајно доминирају особине ароме цвекле и интензитет мириса због присутних инкапсулата. Али у значајној мери се разликују ( $p<0,05$ ) особине растварања у устима, тврдоћа и ломљивост кекса, што је предност приликом конзумирања оваквих производа. Параметри сензорне оцене потврђују да кексић са највећим садржајем инкапсулата одговара стандардима формулације чајних пецива.

- На основу резултата праћених током складиштења кексића закључује се да није дошло до значајних промена у самим кексићима, што потврђује стабилност инкапсулата. Нема значајне деградације активних једињења сока цвекле фенола и беталаина, што указује на добре особине РИ тикве као носача у инкапсулацији. Такође, није дошло до промене у тврдоћи кексића чиме се не губи квалитет производа. Сензорна својства кексића су у малој мери измењена, појачан је слан укус у кексићима, док су остала својства у великој мери остала иста.

- Обогаћеним кексићима доказан је мањи гликемијски индекс ( $GI \sim 65$ ) у односу на контролни узорак са белим брашном ( $GI=83$ ). Производи са оваквим вредностима  $GI$  сматра се да имају средњи  $GI$ , и као такви имају потенцијал производа као здраве хране јер не доводе до наглог пораста нивоа глукозе у крви. Све ово доприноси примени овог производ јер смањује ризик од потенцијалне појаве дијабетеса.

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Електрофоретски профил узорака кексића након <i>in vitro</i> дигестије доказује њихову сварљивост приликом директног конзумирања. На сликама уочавају се траке испод 14 kDa, што значи да је дошло до хидролизе узорака. Присуство PI као носача указује на потенцијалну биоактивност због присуства пептида који се ослобађају из нативне структуре протеина.</li> <li>• Дијализом узорака након <i>in vitro</i> дигестије испитана је доступност фитонутријената и могућност њихове апсорпције у крвоток. Високе вредности индекса биорасположивости указују на велику доступност фенолних једињења (~14%) и пептида (~45%) ослобођених из инкапсулата.</li> <li>• Хидролизати ослобођени из кексића показују антиоксидативну и АЦЕ инхибиторну активност. Обе активности расту са порастом удела инкапсулата у кексићима, али и са ослобађањем хидролизата из протеина.</li> </ul>
<p><b>VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА:</b></p> <p>Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.</p>
<p>Резултати докторске дисертације концизно су подељени у целине које заједно представљају једно поглавље. Добијени су из оригинално постављених лабораторијских експеримената, систематизовани су у логичне целине, обрађени рачунски и статистички и приказани прегледно и јасно табеларно и графички. Уз помоћ дискусије и тумачења добијених резултата које је изведено из приказаних резултата и уз поређење са резултатима других аутора из исте области истраживања, изведени су одговарајући закључци.</p>
<p><b>IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b></p> <p>Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:</p>
<p>1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме?</p> <p>Докторска дисертација је у потпуности написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.</p>
<p>2. Да ли дисертација садржи све битне елементе?</p> <p>Докторска дисертација садржи све битне елементе који се захтевају за радове овакве врсте.</p>
<p>3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци?</p> <p>Докторска дисертација је успешном реализацијом планираних истраживања везаних за развијање <i>in vitro</i> методе као симулације дигестивног тракта дала оригиналан допринос науци, јер добија се могућност испитивања понашања и промена једињења које настају њиховим проласком кроз дигестивни тракт. Развијена метода <i>in vitro</i> дигестија коришћена је за испитивање промена и биорасположивости нутријената и биоактивних компоненти протеина и њихових формулација. Осим тога, посебан допринос ове докторске дисертације је у искоришћењу нуспроизвода индустрије уља као извора протеина. Такође, допринос је и у дефинисању протеина као извора биоактивних једињења, као носача у инкапсулатима и на тај начин очувању стабилности биоактивних једињења, али и уградња протеинских формулација у функционалне прехранбене производе који могу имати различити здравствени бенефит.</p> <p>Значајан допринос је и у увођењу нових метода и модификовања постојећих за физичко-хемијску и биоактивну карактеризацију добијених продуката.</p> <p>Већина резултата добијена у оквиру ове дисертације објављена је у међународним научним часописима и саопштена на међународним научним скуповима чиме је додатно потврђено да ова докторска дисертација представља оригиналан допринос науци.</p>
<p>4. Који су недостаци дисертације и какав је њихов утицај на резултат истраживања?</p> <p>Недостаци докторске дисертације нису уочени.</p>

<b>X ПРЕДЛОГ:</b>
На основу наведеног, комисија предлаже:
а) <b>да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана;</b>
б) да се докторска дисертација врати кандидату на дораду (да се допуни односно измени);
в) да се докторска дисертација одбије.

Место и датум:

1. Др Весна Тумбас Шапоњац, ванредни професор  
\_\_\_\_\_, председник

2. Др Љиљана Поповић, ванредни професор  
\_\_\_\_\_, ментор

3. Др Јадранка Фрај, доцент  
\_\_\_\_\_, члан

4. Др Тамара Дапчевић Хаднађев, виши научни сарадник  
\_\_\_\_\_, члан

**НАПОМЕНА:** Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај и да исти потпише.