

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Реферат о урађеној докторској дисертацији кандидата **Наташе С. Обрадовић**,
дипл. инж. технологије

Одлуком бр. 35/226 од 4.07.2019. године, именовани смо за чланове Комисије за преглед,
оцену и одбрану докторске дисертације кандидата **Наташе С. Обрадовић**, дипл. инж.
технологије

**„КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И ПРИМЕНА ПРИРОДНИХ ХИДРОГЕЛОВА ЗА
ИНКАПСУЛАЦИЈУ ПРОБИОТСКЕ СТАРТЕР КУЛТУРЕ“**

После прегледа достављене Дисертације и других пратећих материјала и разговора са
Кандидатом, Комисија је сачинила следећи

РЕФЕРАТ

1. УВОД

1.1. Хронологија одобравања и израде дисертације

1.04.2018. – Кандидат Наташа С. Обрадовић, предложио је тему докторске дисертације под
називом: „Карактеризација и примена природних хидрогелова за инкапсулацију пробиотске
стартер културе“.

12.04.2018. – На седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета у
Београду донета је Одлука бр. 35/132 о именовању Комисије за оцену подобности теме и
кандидата Наташе С. Обрадовић за израду докторске дисертације под називом:
„Карактеризација и примена природних хидрогелова за инкапсулацију пробиотске стартер
културе“.

31.05.2018. – На седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета у
Београду донета је Одлука бр. 35/187 о прихватању Реферата Комисије за оцену подобности
теме и кандидата и одобравању израде докторске дисертације Наташе С. Обрадовић, под
називом: „Карактеризација и примена природних хидрогелова за инкапсулацију пробиотске
стартер културе“, док је за ментора поменуте докторске дисертације именован др Бранко
Бугарски, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет.

25.06.2018. – На седници Већа научних области техничких наука Универзитета у Београду
дата је сагласност (по одлуци бр. 61206-2541/2-18) на предлог теме докторске дисертације
Наташе С. Обрадовић, под називом: „Карактеризација и примена природних хидрогелова за
инкапсулацију пробиотске стартер културе“.

4.07.2019. – На седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета у Београду донета је Одлука бр. 35/226 о именовану Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације Наташе С. Обрадовић, под називом: „Карактеризација и примена природних хидрогелова за инкапсулацију пробиотске стартер културе“

Кандидат Наташа С. Обрадовић, уписала је докторске академске студије на Технолошко-металуршком факултету, Универзитета у Београду, смер Биохемијско инжењерство и биотехнологија, школске 2010/2011. Решењем бр. 20/147-1 датума 28.09.2018. кандидату је одобрено продужење рока за завршетак докторских студија до краја школске 2019/2020, с обзиром на то да јој школске 2016/2017 били у статусу мировања права и обавеза због неге детета.

1.2. Научна област дисертације

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације припадају научној области Технолошко инжењерство, ужа научна област Биохемијско инжењерство и биотехнологија, за коју је матичан Технолошко-металуршки факултет, Универзитета у Београду. За ментора ове докторске дисертације именован је др Бранко Бугарски, редовни професор Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду.

Ментор др Бранко Бугарски, редовни професор Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду, из наведене области је публикувао преко двадесет радова у часописима који су на *SCI* листи. Др Бранко Бугарски је руководио израдом десет одбрањених докторских дисертација, што говори о компетентности ментора да руководи израдом ове докторске дисертације.

1.3. Биографски подаци о кандидату

Наташа Обрадовић (девојачко Томовић), дипл. инж. технологије, је рођена 14.06.1984. године у Београду. Технолошко-металуршки факултет Универзитета у Београду је уписала школске 2003/04. године на студијском програму Хемијска технологија; студијско подручје Фармацеутско инжењерство и дипломирала 2008. године са просечном оценом 8,46. Дипломски рад на тему “Прорачун и димензионисање дупликаторске посуде за припрему инфузионих раствора “под руководством ментора проф. др Марка Ракина одбранила је са оценом 10,00. Докторске студије на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду је уписала школске 2010/11. године на студијском програму Биохемијско инжењерство и биотехнологија. Положила је све програмом предвиђене испите са просечном оценом 9,50 и одбранила завршни рад са оценом 10,00.

Од фебруара 2011. запослена је као истраживач-приправник у Иновационом центру Технолошко–металуршког факултета, у оквиру пројекта интегралних и интердисциплинарних истраживања из области пољопривреде и хране: „Развој нових инкапсулационих и ензимских технологија за производњу биокатализатора и биолошки активних компонената хране у циљу повећања њене конкурентности, квалитета и безбедности“, Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (број пројекта ИИИ 46010), при чему су њена истраживања везана за инкапсулацију пробиотске стартер културе у природне хидрогел носаче. Године 2015. Наташа Обрадовић стиче звање истраживач-сарадник. Одлуком Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета, на седници одржаној 29.08.2019. године, Наташа С. Обрадовић је реизабрана у истраживачко звање истраживач-сарадник. Учествовала је у реализацији иновационог пројекта “Капсуле здравља у леденом чају” (Ев. бр. 451-03-2802/2013-16/1) (2014-2015). У периоду 2012-2015. била је ангажована и у реализацији Еурека пројекта Е!8029 “Оптимизација енергетског биланса сложених система” (2012-2015).

У досадашњем раду Наташа С. Обрадовић је као аутор или коаутор објавила 10 (десет) радова у међународним часописима (два М21а, један М21, два М22, три М23, два М24), један рад у водећем часопису националног значаја (један М51), 12 (дванаест) саопштења на домаћим и међународним скуповима (седам М33 и пет М34) као и 2 (два) рада објављена у зборницима скупова националног значаја штампана у целини (два М63).

Наташа С. Обрадовић је од 2010. активно учествовала у промоцији и популаризацији науке кроз учешћа на Сајмовима науке, технике и образовања, представљајући Технолошко-металуршки факултет и Иновациони центар Технолошко-металуршког факултета, као и кроз промоцију факултета ученицима средњих школа и гимназија. У летњем семестру 2015/16 године учествовала је у извођењу вежби из предмета Опрема у биотехнологији, док је у зимском семестру исте године учествовала у реализацији вежби из предмета Пројектовање уређаја и апарата у фармацеутској индустрији. У току свог досадашњег научно-истраживачког рада активно је учествовала и у осмишљавању и реализацији више дипломских, мастер и завршних радова.

2. ОПИС ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Садржај дисертације

Докторска дисертација кандидата Наташе С. Обрадовић, дипл. инж. технологије садржи 177 страна (од којих је 165 страна нумерисано), у оквиру којих се налази 7 поглавља, 69 слика, 17 табела и 204 литературна навода. Докторска дисертација садржи: Увод, Теоријски део, Експериментални део, Резултате и дискусију, Закључак и Литературу. На почетку дисертације дати су изводи на српском и енглеском језику. По свом облику и садржају, поднети рад задовољава све стандарде за докторску дисертацију Универзитета у Београду.

2.2. Кратак приказ појединачних поглавља

У Уводу су образложени предмет и циљеви истраживања, као и научни допринос докторске дисертације. У оквиру Теоријског дела дисертације дат је литературни преглед предметне области, изложене кроз три целине. Најпре, истакнут је значај пробиотика, дејство пробиотских култура на људско здравље, општи и технолошки критеријуми за њихову примену, предности и недостаци који лимитирају њихову ширу примену у прехранбеним производима. Даље, изложена је предност инкапсулације пробиотских култура и дат преглед најчешће коришћених техника за инкапсулацију, при чему је посебна пажња посвећена управо техникама инкапсулације коришћеним у овој докторској дисертацији. Такође, посебна целина је посвећена материјалима који су коришћени као носачи за инкапсулацију пробиотских култура. На крају, дат је увид у примену пробиотске стартер културе у прехранбеним производима као и значају поступка инкапсулације у припреми ферментисаних производа и заштити културе у току производног процеса.

У Експерименталном делу дисертације описани су материјали и методе, према редоследу експерименталног истраживачког рада. Најпре су описане технике за припрему и карактеризацију носача са инкапсулираном пробиотском стартер културом (АВУ 6). У састав коришћене културе улазе: *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* 80,0 %, *Lactobacillus acidophilus* 13,0 %, *Bifidobacterium bifidum* 6,0 % и *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* 1,0 %. Приказане су технике коришћене за добијање носача на бази алгината са додатком сурутке, концентрата протеина сурутке и инкапсулиране пробиотске стартер културе. У припреми носача коришћене су технике: екструзија, спреј-сушења и сушење смрзавањем (лиофилизација).

У наставку, дат је преглед метода карактеризације добијених хидрогел носача са инкапсулираном пробиотском стартер културом, као што су оптичка и скенирајућа електронска микроскопија, одређивање величине и површинског наелектрисања носача (зета-потенцијал). Затим, описане су методе којима се испитују могуће интеракције полимер-инкапсулирана култура, полимер-протеини сурутке, као и интеракција између добијених хидрогелова и ферментационог медијума током припреме напитака на бази сурутке. Даље, приказане су методе за одређивање броја вијабилних ћелија у носачима и ферментационом медијуму. Дат је и опис поступка ферментације као и методе имплементације добијених носача и слободне културе у напитке на бази сурутке. Такође, описна је метода испитивања вијабилност инкапсулиране културе у гастро-интестиналним условима и током периода складиштења напитка. На крају, дата је метода за одређивање механичких карактеристика носача пре и после ферментације као и током гастро-интестиналних услова. Реолошко понашање носача у гастро-интестиналним условима је описано и применом математичких модела. За носаче добијене спреј-сушењем и лиофилизацијом су дате и методе које се односе на одређивање садржаја воде као и растворљивости добијених инкапсулата што је значајно за њихову даљу имплементацију у напитке као и чување производа.

У поглављу Резултати и дискусија је дата карактеризација добијених носача са културом у зависности од примењене технике за инкапсулацију културе. Применом технике екструзије са и без електростатичког напона добијени су хидрогел носачи на бази алгината са додатком сурутке и/или концентрата протеина сурутке различитих димензија опсега (0,7-3,0 mm). Након инкапсулације добијени носачи су облагани хитозаном у циљу анализе доприноса облагања носача на хемијску и механичку стабилност носача као и вијабилност инкапсулиране културе. На овај начин припремани носачи су показали висок степен инкапсулације. Анализа инфрацрвеном спектроскопијом са Фуријеовим трансформацијама је потврдила интеракције културе и носача као и носача и ферментационог медијума што указује на успешну инкапсулацију пробиотске стартер културе као и позитиван ефекта ферментационог медијума на механичку и хемијску стабилност носача. Скенирајућа електронска микроскопија је указала и на утицај ферментационог медијума на површинску морфологију и микроструктуру носача као и афинитет културе према носачу. Након имплементације носача добијених техником екструзије у напитке на бази сурутке најбоље резултате у погледу вијабилности културе су показали хитозаном обложени и необложени носачи на бази алгината са додатком сурутке и концентрата протеина сурутке. Након ферментације за овај тип носача је приметан пораст у броју инкапсулираних ћелија за $1,22 \pm 0,02$ (log CFU/g). Бубрење носача током процеса ферментације има значајну улогу у броју отпуштених ћелија из носача при чему је највећи број отпуштених ћелија забележен на примеру носача са додатим концентратом протеина сурутке пре свега због њихове осетљивости на промене рН медијума током ферментације. Носачи на бази алгината припремани са додатком концентрата протеина сурутке су показали најмању флукуацију у броју ћелија у анализираном временском периоду складиштења што је од великог значаја за декларисање оваквог типа производа са пробиотском културом. *In vitro* експерименти који симулирају гастро-интестиналне услове су показали да облагањем хидрогел носача са хитозаном као и да додатком концентрата протеина сурутке се може постићи висок степен преживљавања културе након 4 h у поменутих условима. Реолошко понашање носача у симулираним гастро-интестиналним условима је анализирано помоћу добијених динамичких модула и на основу резултата је моделовано реолошко понашање материјала применом математичких модела. Вредности предвиђене моделима добро корелирају са експерименталним резултатима. Механичка својства носача су анализирана пре и после процеса ферментације где је показано да ферментациони медијум као и услови током овог процеса имају позитиван ефекат на механичка својства носача.

Присуство ћелија у чистим калцијум-алгинатним носачима утиче на смањење чврстоће хидрогел носача што није случај и приликом обогаћења носача додатком сурутке или концентрата протеина који поспешују интеракције између ћелија и материјала коришћеног за инкапсулацију и самим тим механичку стабилност хидрогел система. Применом технике спреј-сушења добијени су носачи величине у опсегу 5,06-7,23 μm у зависности од типа носача. Стабилност носача добијених спреј-сушењем је испитана одређивањем наелектрисања по површини методом дифракције ласерских зрака при чему добијене вредности за зета-потенцијал указују да је додаток протеина сурутке имао допринос са аспекта хемијске стабилности система. Анализом површинске морфологије оваквог типа носача такође је уочена храпавија површина као последица дехидратације система током поступка инкапсулације с тим да носачи задржавају сферни облик. Након спреј-сушења највећи број вијабилних ћелија је достигнут у носачима који су поред сурутке обогаћени и са концентратом протеина сурутке. Након процеса ферментације је забележен највећи раст у броју ћелија у носачима припреманим само са додатком сурутке и добијени резултат износи 2,13 ($\log \text{CFU/g}$). Носачи са инкапсулираном културом су чувани у интервалу од 45 дана где је приметан пад у броју ћелија за обе врсте носача након периода од 14 дана с тим да је мањи пад забележен код узорака са додатим концентратом протеина где је и у периоду од 37 дана остварен задовољавајући број пробиотских ћелија. У току процеса спреј-сушења долази до денатурације протеина који у овом случају имају додатну заштитну улогу од влаге због чега је и боље преживљање у овом типу носача. Након складиштења напитака са анализираним носачима у временском периоду од 28 дана одржан је задовољавајући број пробиотских ћелија са мањим флукуацијама у њиховом броју у односу на почетни број након ферментације. Узорци ферментационог медијума су испитани и у смулираним гастроинтестиналним условима где је након 4h забележено боље преживљавање у носачима припреманим са додатком концентрата протеина сурутке. Применом технике сушења смрзавањем добијени су носачи величине у опсегу 2,98-5,22 μm . Као и у случају носача добијених техником спреј-сушења приметан је пад у вредности зета-потенцијала за носаче припремане са додатком концентрата протеина сурутке што указује на допринос протеина на стабилност система. Такође је уочена боља вијабилност културе у носачима са додатим концентратом протеина због криопротектантних својства протеина. Овом техником је добијено боље преживљавање него у случају примене технике спреј-сушења. Имплементацијом носача добијених техникама спреј-сушења и сушења смрзавањем у ферментационим медијум богат јонима калцијума подстиче се гелирање оваквих типова носача. Након складиштења инкапсулата као и напитка са додатим носачима добијена је задовољавајућа вијабилност пробиотске културе. Резултати и дискусија приказују критички осврт на добијене носаче за инкапсулацију пробиотске стартер културе, где су испитивани носачи међусобно упоређени са аспекта применљивости процеса на индустријском нивоу, као и у прехранбеној индустрији, затим са аспекта карактеристика добијених носача и контролисаног отпуштања инкапсулираних пробиотских ћелија.

У поглављу Закључак таксативно су наведени најважнији закључци изведени из испитивања изложених у претходним поглављима.

Након тога, у поглављу Литература наведене су све референце коришћене током израде и писања докторске дисертације.

На крају докторске дисертације приложена је биографија кандидата.

3. ОЦЕНА ДИСЕРТАЦИЈЕ

3.1. Савременост и оригиналност

Докторска дисертација Наташе С. Обрадовић за предмет има савремену тему истраживања која се односи на примену, карактеризацију и формулацију биополимерних система за инкапсулацију пробиотске стартер културе. С обзиром на растућу свест потрошача о значају пробиотских култура на људско здравље, све је већа примена ових култура у прехранбеној, фармацеутској и козметичкој индустрији. Међутим, да би поменуте културе оствариле жељени терапеутски ефекат неопходно је да остану метаболички активне у производу и да преживе физиолошке услове у желуцу у што већем броју.

Стога, примена поступака инкапсулације пробиотских култура у природне хидрогелове представља атрактивну област у научним истраживањима и има велики значај у заштити култура током производних процеса, гастро-интестиналних услова и у временском периоду који је ограничен роком трајања производа. Сурутка је течни споредни производ који садржи више од 55 % састојака који су присутни у млеку, укључујући протеине сурутке, лактозу, витамине растворљиве у води и минерале. Протеини и пептиди сурутке имају позитиван утицај на имуни, кардиоваскуларни, нервни и гастро-интестинални систем. Узимајући у обзир велики потенцијал сурутке као полазне сировине, све је више функционалних напитака на бази сурутке. Имплеметацијом инкапсулиране културе у напитке на бази сурутке омогућава се унапређење пробиотског карактера производа као и развој иновативних производа из области функционалне хране. Међутим, вијабилност пробиотских бактерија је од велике важности, с обзиром на то да су пробиотици изложени неповољним условима током процеса производње, складиштења производа као и у гастро-интестиналним условима. Узимајући у обзир значај заштите културе у поменутим условима, неопходно је развити адекватне системе за инкапсулацију ћелија. Инкапсулацијом културе у природне хидрогел носаче пружа се заштита ћелија у току производног процеса, унапређује вијабилност културе у гастро-интестиналним условима и продужава рок трајања производа. За инкапсулацију пробиотске стартер културе могу да се користе природни хидрогелови на бази алгината обогачени сурутком и/или концентратом протеина сурутке добијени различитим техникама. Након поступка инкапсулације испитивани хидрогел носачи су облагани хитозаном и на тај начин разматран утицај облоге на контролисано отпуштање система и вијабилност културе у поменутим условима. Када се бира адекватна техника припреме носача, мора се имати на уму могућност увећања размера процеса, како би предложена техника била примењива и на индустријском нивоу. Управо из тог разлога су у овој докторској дисертацији поред технике која је коришћена у процесима мањих размера, као што је техника екструзије, испитане и технике које су адекватне и за индустрију, и то техника спреј-сушења и техника сушења смрзавањем. Такође, да би се испоштовали строги прописи који регулишу употребу материјала у прехранбеној и индустрији, коришћени материјали за инкапсулацију су биокомпатибилни и нетоксични. Да би се стекао увид у то шта се дешава са носачима са инкапсулираном пробиотском стартер културом након конзумације производа и да ли предложени системи имају потенцијал за контролисано отпуштање ћелија, у овој докторској дисертацији је одређивана вијабилност културе у симулираним гастро-интестиналним условима као и број отпуштених ћелија у медијуму у процесу припреме производа на бази сурутке. Посебно су анализирана механичка својства добијених носача и разматран утицај ферментационог медијума на механичку стабилност хидрогелова у производним условима. Такође је разматран и утицај ензима и промене вредности рН у симулираним условима на механичку стабилност носача и на основу добијених вредности за динамичке модуле одабрани адекватни математички модели за опис реолошког понашања хидрогел носача са инкапсулираном културом.

Резултати ове докторске дисертације дају увид не само научној јавности, већ и индустријском сектору о потенцијалу поменутих носача са инкапсулираном пробиотском стартер културом за примену као функционалних адитива прехранбеним производима. На тај начин се може допринети повећању квалитета постојећих производа или формулацији иновативних производа. На основу опсежног прегледа литературе, може се закључити да се истраживања у оквиру ове докторске дисертације уклапају у светске трендове и указују на значај и актуелност проучаване проблематике.

3.2. Осврт на референтну и коришћену литературу

У оквиру докторске дисертације кандидата Наташе С. Обрадовић, цитирано је 204 литературна навода који су омогућили да се прикаже стање у испитиваној области, као и актуелност проблематике. Савремена истраживања објављена у наведеним научним радовима су описана, анализирана и дискутована и изведени су закључци који су омогућили добар увид у потенцијал биополимерних система са инкапсулираном пробиотском стартер културом за примену у прехранбеној индустрији, посебно у припреми ферментисаних производа на бази сурутке. На основу пажљиве анализе резултата приказаних у научној литератури изложене су основне смернице за истраживања која су извршена у овој докторској дисертацији. Из образложења предложене теме докторске дисертације и објављених радова у пријави, коју је кандидат поднео, као и из наведене литературе која је коришћена у истраживању, уочава се изузетно велико познавање предметне области истраживања, као и познавање актуелног стања истраживања у овој области у свету.

3.3. Опис и адекватност примењених научних метода

Сви резултати у оквиру ове дисертације су доказани одговарајућим експериментима, као и савременим аналитичким инструменталним мерењима према оригиналним или модификованим методама из литературе. Носачи на бази алгината обогаћени са додатком сурутке и/или концентрата протеина сурутке припремани су коришћењем три технике - екструзија, спреј-сушење и сушење смрзавањем. Карактеризација добијених хидрогелова рађена је у циљу одређивања њиховог облика (оптичка микроскопија) и површинске морфологије и порозност (скенирајућа електронска микроскопија), величине честица и расподеле величина, као и наелектрисања на површини честица (ласерске дифракционе технике). Такође, испитиване су интеракције полимер-инкапсулирана култура и/или полимер-протеини сурутке, као и интеракција између добијених хидрогелова и ферментационог медијума током припреме напитака на бази сурутке (инфрацрвена спектроскопија са Фуријеовим трансформацијама). Бубређе носача током процеса ферментације и у гастро-интестиналним условима је праћено на основу промене у запремини узорака применом оптичке микроскопије. Механичке карактеристике хидрогелова на бази алгината су испитане на савременом уређају за тестирање механичких карактеристика материјала AG-X plus Universal Testing Machine, у режиму компресије и коришћењем методе посебно прилагођене овој врсти узорака. Ефикасност поступка инкапсулације, преживљавање као и контролисано отпуштање културе пратила се одређивањем броја живих микроорганизама методом бројања на агарним плочама пре и после процеса ферментације. Такође је анализирана способност преживљавања културе, стабилност носача у симулираним условима гастро-интестиналног тракта као и током складиштења производа у одређеном временском периоду. Промене у структури хидрогел система током поменутих услова су разматране помоћу реолошких мерења на уређају Haake Mars rheometar, Thermo Scientific Karlsruhe, а затим на основу добијених експерименталних резултата су одабрани адекватни математички модели којима је описано реолошко понашање хидрогел носача са инкапсулираном културом.

3.4. Примењивост остварених резултата

Након поређења резултата приказаних у оквиру ове докторске дисертације са до сада објављеним резултатима других истраживачких група, закључили смо да је остварен значајан допринос у развоју нових природних хидрогел система за инкапсулацију пробиотске стартер културе на бази алгината са додатком сурутке и/или концентрата протеина сурутке који омогућавају адекватну заштиту културе у току процеса ферментације, гастро-интестиналних услова као и складиштења производа. Добијени су ферментисани напици на бази сурутке са задовољавајућим пробиотским карактером производа.

Системи описани у овој тези имају велики потенцијал примене, од примене у функционалним прехранбеним производима, преко формулације нових прехранбених производа. Поред тога, на основу резултата тезе се може предложити адекватан избор технике припреме носача како би процес могао да се изводи у индустријским размерама.

3.5. Оцена достигнутих способности кандидата за самостални научни рад

Спроведећи иновативна истраживања током израде докторске дисертације, кандидат Наташа С. Обрадовић, дипл. инг. испољила је изузетну стручност у реализацији експеримената кроз модификацију и оптимизацију примењених техника и метода, као и кроз анализу и начина приказивања резултата. Током својих истраживања, спроведених врло одговорно и зрело, испољила је како самосталност у раду, систематичност и креативност, тако и критичност. Током докторских студија, Наташа С. Обрадовић се истицала способношћу да на прави начин представи и у потпуности објасни све аспекте бројних експерименталних резултата до којих је долазила како у самосталном тако и у тимском раду. Стручном и аналитичном приступу у постављању и спровођењу експеримента и истраживања посебно је допринео изразито развијен инжењерски приступ који Наташа С. Обрадовић константно показује у свом раду. На основу бројних постигнутих резултата и изузетног залагања, те доприноса развоју науке, Комисија је мишљења да кандидат Наташа С. Обрадовић, дипл. инг. поседује све неопходне квалитете за самостални научно-истраживачки рад.

4. ОСТВАРЕНИ НАУЧНИ ДОПРИНОС

4.1. Приказ остварених научних доприноса

Резултати до којих се дошло у оквиру ове дисертације дају значајан научни допринос у развоју природних хидрогелова на бази алгината са додатком сурутке и/или концентрата протеина сурутке за инкапсулацију пробиотске стартер културе. Такође, резултати овог рада у целини дају научни допринос испитивању феномена инкапсулације ћелија у биополимерне носаче, поступака добијања носача различитим техникама, затим интеракција између носача и инкапсулираних ћелија, као и између носача и ферментационог медијума, али и других феномена који утичу на ефикасност поступка инкапсулације и вијабилност инкапсулиране културе. Посебни научни доприноси резултата истраживања остварених у оквиру ове докторске дисертације се огледају у:

- оптимизацији процеса инкапсулације пробиотске стартер културе у биополимерне носаче припремљене техникама екструзије, спреј-сушења и сушења смрзавањем;
- унапређење процеса производње напитака на бази сурутке додатком инкапсулиране пробиотске стартер културе у хитозаном обложене и необложене природне хидрогел носаче у циљу повећања пробиотског карактера производа;
- идентификовање интеракцијама између културе и хидрогел носача, као и о утицају ових интеракција на вијабилност и механичку стабилност носача;
- утврђивању утицаја параметара процеса ферментације и медијума на механизам бубрења као и механичку стабилност хидрогел носача са инкапсулираном културом;
- процени оптималне методе за инкапсулацију пробиотске стартер културе, узимајући у обзир следеће: ефикасност поступка инкапсулације, величину и остале карактеристике добијених носача, вијабилност културе, једноставност поступка и примене у индустријским условима;
- контролисаном отпуштању културе током процеса ферментације и у симулираним гастро-интестиналним условима;
- утврђивању утицаја облагања носача хитозаном на вијабилности инкапсулиране културе током ферментације, симулираним условима гастро-интестиналног тракта као и током складиштења производа у предвиђеном временском интервалу;
- дефинисању адекватног математичког модела који ће описивати реолошко понашање хидрогел носача у гастро-интестиналним условима.

4.2. Критичка анализа резултата истраживања

Истраживања која су изведена у овој докторској дисертацији конципирана су на основу претходно дефинисаних циљева и детаљне анализе литературе из области инкапсулације пробиотских култура, у различите хидрогел системе. Иако је инкапсулација пробиотских ћелија последњих деценија доживела експанзију у броју радова, ипак нешто мањи број студија је посвећен инкапсулацији стартер култура, посебно пробиотске стартер културе.

Такође, предност ове докторске дисертације јесте и чињеница да имплементацијом инкапсулиране пробиотске стартер културе у напитке на бази сурутке се добија нови ферментациони производ побољшане функционалности. Како би се природни хидрогел системи са инкапсулираном културом применили са сигурношћу као функционални адитив храни, неопходно је првенствено урадити њихову карактеризацију. У те сврхе у овој дисертацији је одређена вијабилност ћелија након инкапсулације, ферментације као и у симулираним гастро-интестиналним условима и током складиштења напитка. Најпре су хитозаном обложени и необложени хидрогел носачи на бази алгината са додатком сурутке и/или концентрата протеина припремани техником екструзије са и без електростатичког напона, при чему овај тип технике омогућава контролисану производњу хидрогел носача жељених димензија. Након тога, за добијање носача коришћене су технике спреј-сушења и сушења смрзавањем, као технике које је могуће применити на индустријском нивоу. Сви добијени носачи били су сферни, при чему се показало да морфологија површине носача зависи од њиховог састава, односно концентрације алгината и да ли је у систем додата само сурутка или у комбинацији са концентратом протеина сурутке који има додатну заштитну улогу током процеса спреј-сушења и лиофилизације. Анализом степена инкапсулације за поменуте технике, најбољи резултат је остварен применом технике екструзије. Након инкапсулације добијени носачи су имплементирани у напитака на бази сурутке и потом се пратио процес ферментације. Ферментациони медијум је богат јонима калцијума који подстичу гелирање поменутих носача

Посебно су анализирана механичка својства носача где је приметно да процес ферментације има позитиван утицај на механичка својства оваквог типа хидрогел система. Експериментални резултати су показали да додаток културе у чисту полимерну матрицу смањује механичку стабилност носача, што није случај у хидрогел носачима припреманим са додатком сурутке или концентрата протеина сурутке. Додатак сурутке и концентрата протеина сурутке је поспешео афинитет културе према носачу што се позитивно одразило и на вијабилност културе током процеса ферментације, у гастро-интестиналним условима као и временском периоду складиштења напитка. У циљу додатног унапређења контролисаног отпуштања ћелија као и вијабилности у току производног процеса, носачи су облагани хитозаном. Облагањем су постигнути бољи резултати у погледу вијабилности културе у симулираним гастро-интестиналним условима као и током складиштења напитка. Носачи који су обложени хитозаном су показали и задовољавајућа механичка својства и на основу добијених вредности за динамиче модуле су дефинисани адекватни математички модели који би описали реолошко понашање оваквих система у симулираним гастро-интестиналним условима.

Након примене техника спреј-сушења и сушења смрзавањем, носачи припремани са концентратом протеина сурутке су показали најбоља својства у погледу вијабилности културе. Растворљивост инкапсулата се смањује са порастом садржаја протеина у носачу који с друге стране имају и заштитну улогу у току процеса инкапсулације као и од влаге у временском периоду чувања добијених узорака. Поређењем поменутих техника, након поступка инкапсулације бољи резултат у погледу вијабилности културе је забележен применом технике сушења смрзавањем. Испитивањем вијабилности културе након 4h у симулираним гастро-интестиналним условима, приметан је већи број преживелих пробиотских ћелија у случају носача добијених техником спреј-сушења.

Резултати приказани у овој дисертацији указују да биополимерни носачи добијени наведеним техникама имају потенцијал да буду примењени као функционални адитиви у прехранбеној индустрији. Такође, ово истраживање је отворило нове правце у погледу нових формулација природних хидрогел система за инкапсулацију пробиотских култура у циљу побољшања функционалних својстава производа.

4.3. Верификација научних доприноса

Кандидат Наташа С. Обрадовић је резултате истраживања добијене у току израде ове дисертације потврдила објављивањем радова у часописима међународног и националног значаја и саопштавањем радова на међународним скуповима. У оквиру израде ове докторске дисертације кандидат је аутор 2 (два) рада у истакнутом међународном часопису (ознака групе M20: врста резултата M22, 2 рад), затим 1 (једног) рада у часопису међународног значаја (ознака групе M20: врста резултата M23, 1 рад), 1 (један) рад објављен у часописима националног значаја (ознака групе M50: врста резултата M51, 1 рад), 4 (четири) рада објављена у зборницима скупова међународног значаја штампаних у целини и изводу (ознака групе M30: врста резултата M33-2 рада; M34-2 рада).

Кандидат се током израде дисертације бавио истраживачким радом у оквиру уже научне области биохемијског инжењерства и биотехнологије у оквиру којих је коаутор 7 (седам) радова објављених у часописима међународног значаја (ознака групе M20: врста резултата M21a-2 рада; M21-1 рад, M23-2 рада; M24-2 рада), 8 (осам) радова објављена у зборницима скупова међународног значаја штампаних у целини и изводу (ознака групе M30: врста резултата M33-5 рад; M34-3 рада), 2 (два) рада објављена у зборницима скупова националног значаја штампана у целини (ознака групе M60: врста резултата M63-2 рада).

Списак радова који су резултат истраживања у оквиру докторске дисертације

Категорија М22:

1. **Обрадовић Н.**, Крунић Т., Трифковић К., Булатовић М., Ракин М.П., Ракин М.Б., Бугарски Б.: *Influence of chitosan coating on mechanical stability of biopolymer carriers with probiotic starter culture in fermented whey beverages*, International Journal of Polymer Science, 2015, pp. 1-8, Article ID 732858, ISSN: 1687-9422, IF(2018)=1,892.
2. **Обрадовић Н.**, Пајић-Лијаковић И., Крунић Т., Беловић М., Ракин М., Бугарски Б.: *Effect of Encapsulated Probiotic Starter Culture on Rheological and Structural Properties of Natural Hydrogel Carriers Affected by Fermentation and Gastrointestinal Conditions*, Food Biophysics, 2019, pp. 1-14, <https://doi.org/10.1007/s11483-019-09598-8>, ISSN: 1557-1858, IF(2018)=2,411.

Категорија М23:

1. **Томовић Н.**, Трифковић К., Ракин М.Б., Ракин М.П., Бугарски Б.: *Influence of compression speed and deformation percentage on mechanical properties of calcium alginate particles*, Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly, Vol 21, No 3, 2015, pp. 411-417, ISSN: 1451-9372, IF(2014)=0,892.

Категорија М51:

1. **Обрадовић Н.**, Крунић Т., Дамњановић И., Вукасиновић-Секулић М., Ракин М.Б., Ракин М.П., Бугарски Б.: *Influence of whey proteins addition on mechanical stability of biopolymer beads with immobilized probiotics*, Tehnika, Vol 70, No 3, 2015, pp. 397-400, ISSN: 0040-2176.

Категорија М33:

1. **Обрадовић Н.**, Крунић Т., Волић М., Ракин М., Бугарски Б.: *Microencapsulation of dairy starter culture in hydrogel carriers*, VI International Congress: „Engineering, Environment and Materials in Processing Industry“, CD proceedings, Jahorina, Bosnia and Herzegovina 2019, ISBN:978-99955-81-28-2, pp 266-271.
2. **Обрадовић Н.**, Крунић Т., Волић М., Пајић-Лијаковић И., Недовић В., Ракин М., Бугарски Б.: *The effect of whey protein concentrate on encapsulation efficiency and viability of probiotic starter culture in natural biopolymer carriers*, IV International congress “Food Technology, Quality and Safety”, Novi Sad 2018, pp 51-56

Категорија М34:

1. **Обрадовић Н.**, Крунић Т., Булатовић М., Ракин М.Б., Ракин М.П., Бугарски Б.: *Application of immobilization of probiotics cells in production of functional fermented whey beverages*. Book of Abstracts 7th Central European Congress on Food – CEFood, Ohrid 2014, p. 219.
2. **Обрадовић Н.**, Крунић Т., Дамњановић И., Јенић А., Ракин М.Б., Ракин М. П., Бугарски Б.: *Influence of whey proteins addition on mechanical stability of biopolymer beads with immobilized probiotics*, Book of Abstracts Thirteenth Young Researchers' Conference Materials Science and Engineering, Belgrade 2014, p. 3.

Остали научни радови кандидата:

Категорија М21а:

1. Крунић Т., Булатовић М., **Обрадовић Н.**, Вукашиновић-Секулић М., Ракин М.: *Effect of immobilization materials on viability and fermentation activity of dairy starter culture in whey based substrate*, Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol 96, No 5, 2016, pp. 1723-9, ISSN: 1097-0010, IF(2016)=2,463.
2. Крунић Т., **Обрадовић Н.**, Ракин М.: *Application of whey protein and whey protein hydrolysate as protein based carrier for probiotic starter culture*, Food Chemistry, Vol 293, 2019, pp. 74-82, ISSN: 0308-8146, IF(2018)=5,339.

Категорија М21:

1. Вујчић И., Машић С., **Обрадовић Н.**, Драмићанин М.: *Preparation of beechwood/polymer composites using the method of lyophilization and gamma irradiation*, Radiation Physics and Chemistry, Vol 166, pp. 108505 <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2019.108505>, ISSN: 0969-806X, IF(2018)=1,984.

Категорија М23:

1. Димић И., Цвијовић-Алагић И., **Обрадовић Н.**, Петровић Ј., Путић С., Ракин М., Бугарски Б.: *In vitro biocompatibility assessment of Co–Cr–Mo dental cast alloy*, Journal of the Serbian Chemical Society, Vol 80, No 12, 2015, pp. 1541–1552, ISSN: 0352-5139, IF(2015)=0,970.
2. Крунић Т., **Обрадовић Н.**, Булатовић М., Вукашиновић-Секулић М., Трифковић К., Ракин М.: *Impact of carrier material on fermentative activity of encapsulated yoghurt culture in whey based substrate*, Hemijska industrija, Vol 71, No 1, 2017, pp. 41–48, ISSN:2217-7426, IF(2016)=0,459.

Категорија М24:

1. **Томовић Н.**, Димић И., Ракин М., Путић С., Међо Б.: *Influence of working conditions on strength calculation of pressure vessel of austenitic steel according to SRPS EN 13445*, Structural Integrity and Life, Vol 13, No 2, 2013, 137-140, ISSN: 1451-3749.
2. Димић И., **Томовић Н.**, Блажић Ј., Ракин М., Бугарски Б.: *Strength design calculation of a horizontal pressure vessel*, Structural Integrity and Life, 13(2), 2013, 157-161, ISSN: 1451-3749.

Категорија М33:

1. Крунић Т., **Обрадовић Н.**, Булатовић М., Вукашиновић Секулић М., Мојовић Љ., Ракин М.: *Fermentative activity and viability of immobilized probiotic starter culture ABY-6 in whey based substrates*, Proceedings of 2nd International “Food Technology, Quality and Safety” Congress, Novi Sad 2014, pp. 297-302.
2. Булатовић М., Крунић Т., **Обрадовић Н.**, Вукашиновић-Секулић М., Зарић Д., Ракин М.: *Influence of fruit juice addition on quality of fermented whey-based beverage*, , Proceedings of 2nd International “Food Technology, Quality and Safety” Congress, Novi Sad 2014, pp. 303-308

3. Ракин М., Арсић М., Шаркоћевић Ж., Међо Б., **Томовић Н.**, Седмак А.: *Damaged welded pipes for oil and gas rigs exposed to internal pressure – failure estimation*, Proceedings of 19th European Conference on Fracture ECF19, Kazan 2012, pp. 1-7.
4. Волић М., **Обрадовић Н.**, Ђорђевић В., Кнежевић-Југовић З., Пећинар И., Стевановић Дајић З., Бугарски Б.: *Encapsulation of thyme essential oil in alginate-casein beads for intestinal delivery*, IV International congress “Food Technology, Quality and Safety”, Novi Sad 2018, pp 57-62. 7.
5. Волић М., Ђорђевић В., **Обрадовић Н.**, Кнежевић-Југовић З., Бугарски Б.: *The effect of protein addition into carrier for thyme oil delivery: in vitro protein digestion*, VI International Congress: „Engineering, Environment and Materials in Processing Industry“, CD proceedings, Jahorina, Bosnia and Herzegovina 2019, pp 260-265.

Категорија М34:

1. Крунић Т., **Обрадовић Н.**, Бугарски Б., Ракин М.: *Effect of chitosan and whey protein addition in alginate matrix used for probiotic encapsulation on carrier properties*, Book of abstracts UNIFood Conference, Beograd 2018, Srbija, p 255.
2. Трифковић К., **Обрадовић Н.**, Ракин М.Б., Ракин М.П., Ђорђевић В., Недовић В., Бугарски Б.: *Mechanical properties of Ca-alginate beads with immobilized probiotic cells – influence of fermentation process*, Book of Abstracts 2nd International Congress „Food Technology, Quality and Safety“, Novi Sad 2014, p. 83.
3. Димић И., **Томовић Н.**, Цвијовић-Алагић И., Ракин М., Бугарски Б.: *Metal ion release from titanium and cobalt-based alloy for dental application*, Book of abstracts Fifteenth annual conference, YUCOMAT 2013, Herceg Novi 2013, p. 146.

Категорија М63:

1. Петровић Ј., Димић И., Стаменовић М., **Томовић Н.**, Путић С.: *Одређивање деформација при дејству унутрашњег притиска код стаклена влакна-полиестер композитних цеви излаганих растворима киселина и база*, Зборник радова са саветовања “Напредни материјали и могућности њихове примене”, Пожаревац 2011, str. 64-73.
2. Димић И., Међо Б., Путић С., **Обрадовић Н.**, Ракин М., Барјактаревић Д.: *Примена материјала на бази титана за израду импланата*, Зборник радова са саветовања “Савремени материјали и могућност њихове примене”, Пожаревац 2015, str. 48-57.

Категорија П32:

1. Ракин М., Путић С., **Томовић Н.**, Гњатовић Б.: *Опрема у фармацеутском инжењерству*, Приручник, Технолошко-металуршки факултет, Београд, 2010, ISBN: 978- 86-7401-265-9.

5. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

На основу свега наведеног Комисија сматра да докторска дисертација кандидата **Наташе С. Обрадовић, дипл. инг.**, под насловом „**Карактеризација и примена природних хидрогелова за инкапсулацију пробиотске стартер културе**“ представља значајан и оригиналан научни допринос у датој области, што је и потврђено кроз објављивање радова у часописима међународног значаја. Предмет и циљеви који су постављени су јасно наведени и у потпуности остварени. Комисија је мишљења да докторска дисертација под називом „**Карактеризација и примена природних хидрогелова за инкапсулацију пробиотске стартер културе**“ у потпуности испуњава све захтеване критеријуме као и да је кандидат током израде дисертације показао изузетну научно-истраживачку способност у свим фазама израде ове дисертације.

Имајући у виду квалитет, обим и научни допринос постигнутих и приказаних резултата, Комисија предлаже Наставно-научном већу Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду, да прихвати овај Реферат, пружи на увид јавности поднету докторску дисертацију кандидата **Наташе С. Обрадовић, дипл. инг.** у законом предвиђеном року, као и да Реферат упути Већу научних области техничких наука Универзитета у Београду и да након завршетка процедуре позове кандидата на усмену одбрану дисертације пред Комисијом у истом саставу.

У Београду, 15.10.2019.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

.....
др Бранко Бугарски, редовни професор
Универзитета у Београду, Технолошко- металуршки факултет

.....
др Марица Ракин, редовни професор
Универзитета у Београду, Технолошко- металуршки факултет

.....
др Марко Ракин, редовни професор
Универзитета у Београду, Технолошко- металуршки факултет

.....
др Ивана Пајић-Лијаковић, научни саветник
Универзитета у Београду, Технолошко- металуршки факултет

.....
др Виктор Недовић, редовни професор
Универзитета у Београду, Пољопривредни факултет