

НАСТАВНО НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

Предмет: Извештај Комисије за оцену докторске дисертације мастера Монике Стојанове

На основу члана 57. Став 1. Правилника о правилима докторских студија Пољопривредног факултета, а на предлог одговарајућег већа катедре и мишљења одговарајућег наставно-научног већа института, Наставно-научно веће факултета на седници одржаној 29.09.2021. године донело је одлуку бр. 32/29-6.1. да се образује Комисија за оцену докторске дисертације кандидата мастера Монике Стојанове под насловом: „**Примена екстраката одабраних врста јестивих и медицинских гљива у производњи дехидрираних супа као функционалне хране**“. Председник Комисије др Милена Пантић, ванредни професор (Одлука број 21/5-4-20 од 20.10. 2021. године) је припремила следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Основни подаци о кандидату и дисертацији

Основни подаци о кандидату. Моника Стојанова рођена је у Скопљу, Република Македонија, 14.6.1993 године. Основну и средњу школу завршила је у Скопљу са одличним успехом. Основне академске студије завршила је 2016. године чиме је стекла стручно звање дипломирани инжењер пољопривреде, студијски програм квалитет и безбедност хране, са просечном оценом 10,00. Године 2016. уписала је Мастер академске студије на Факултету пољопривредних наука и хране, студијски програм квалитет и безбедност хране, модул микробиологија на Универзитету „Св. Кирил и Методиј“ – Скопље, Република Македонија. Мастер рад под називом „Утицај неких стартер култура на квалитет индустријски произведене македонске традиционалне кобасице“ одбранила је 2018. године чиме се стекла звање магистра пољопривредних наука, са просечном оценом 10,00. У октобру 2018. године уписала је Докторске академске студије на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, студијски програм Прехрамбена технологија. Од академске 2016. до 2019. године ангажована је као демонстратор на групи предмета из области микробиологије, технолошке микробиологије и технологије меса и месних припрема на Факултету пољопривредних наука и хране на Универзитету „Св. Кирил и Методиј“ – Скопље. У академској 2020. години, у љетњем семестру, ангажована је као демонстратор на Институту за органску технологију и биотехнологију на Технолошко–металуршком факултету, Универзитета „Св. Кирил и Методиј“ – Скопље, Република Северна Македонија. 2013. године добила је награду „13 Ноември“ коју додељује град Скопље за студенте за континуиран успех и ваннаставне активности. Добитник је признања „Инженерски прстен“ за најбољег дипломираног студента из области техничких наука 2017. године, које додељује Инжињерски институт Македоније, под покровитељством председника Републике Македоније. Награду за најбољег

дипломираног студента на Факултету пољопривредних наука и хране у академској 2015/2016 коју додељује Универзитет „Св. Кирил и Методиј“, Скопље добила је 2018. године. Исте године својом иновацијом (македонска традиционална кобасица) представља Републику Македонију на 11. светском сајму жена иноватора (KIWIE) у Сеулу, Кореји, где је освојила две златне медаље, једну сребрну медаљу и сертификат за најбољу иновацију. Као аутор и коаутор 21 рада учествовала је на више симпозијима, конгреса и конференција. Као аутор и коаутор публиковала је 18 радова (6 на SCI листи) у националним и интернационалним часописима.

Основни подаци о докторској дисертацији. Докторска дисертација мастера Монике Стојанове написана је на 196 страна текста, укључујући 42 табеле, 20 графика и 28 слика, а цитирано је 405 референци из изворне научне литературе. Дисертација садржи сажетак са кључним речима на српском и енглеском језику. Дисертација садржи следећих осам поглавља: 1. Увод (стр. 1-2), 2. Преглед литературе (стр. 3-43), 3. Циљ истраживања (стр. 44), 4. Материјал и методе (стр. 45-65), 5. Резултати и дискусија (стр. 66- 160), 6. Закључак (стр. 161- 167), 7. Литература (168-196), На крају текста дисертације налазе се Изјава о ауторству, Изјава о истовестности штампане и електронске верзије рада, Изјава о коришћењу и Биографија кандидата.

2. Предмет и циљ дисертације

Предмет истраживања предвиђен изразом ове докторске дисертације, састоји се из три дела. Наиме, први део предвиђа сакупљање једне јестиве и две медицинске гљиве из природних станишта у Републици Северној Македонији, одређивање њиховог хемијског састава у свежем и осушеном облику и припрему екстракта. Други део има за циљ хемијску карактеризацију добијених екстраката и утврђивање њихових биолошких својстава. У трећем делу, предмет истраживања је производња дехидриране супе са додатком екстраката гљива, тј. истраживање могућности примене екстракта у дехидрираним супама и добијање новог дехидрираног производа с повећаном биолошком вредношћу који припада категорији функционалне хране. При дефинисању предмета истраживања пошло се од чињенице да се индустријска производња супа у свету константно повећава. Поред свих позитивних карактеристика, недостатак индустријски произведене супе је то што садрже различите адитиве, а додаток који се најчешће користи је мононатријум глутаминат (Е621). Данас се бројне студије све више фокусирају на проналажење различитих врста природних адитива. Резултати бројних студија указују да неке врсте гљива садрже висок проценат аминокиселина и самим тим се могу успешно користити као природан адитив у индустријским производима. Гљиве (свеже или сушене) и њихови екстракти садрже различита биолошки активна једињења и многи аутори их убрајају у нутритивно вредну храну.

Циљ истраживања. Обзиром на значај функционалне хране и њен позитиван утицај на здравље потрошача, а имајући у виду све чешћи штетни утицај који се јавља код потрошача као последица примене различитих врста адитива у производима, циљ овог истраживања био је да се утврди утицај неколико екстраката гљива на квалитет и биолошку активност дехидрираних супа. Супе су обогаћене лиофилизованим воденим и етанолним екстракцима јестиве гљиве *Suillus granulatus* и медицинских гљива *Coriolus*

versicolor и *Fuscoporia torulosa*. Такође, у циљу побољшања сензорних својстава, три најбоље супе су произведене додавањем 50% мање мононатријум глутамината. Стога, главна идеја ове докторске дисертације била је добијање воденог и етанолног екстракта гљива *Suillus granulatus*, *Coriolus versicolor* и *Fuscoporia torulosa* у лабораторијским условима, као и утврђивање хемијског састава свежих, сувих гљива и њихових водених и етанолних екстраката; антимикуробних, антиоксидативних и антитуморних својства обе врсте екстраката гљива; могућности лиофилизације обе врсте екстраката и утврђивање антиоксидативне и антимикуробне активности лиофилизованих екстраката; могућности примене обе врсте екстраката у дехидрираним супама и добијање производа са повећаном биолошком вредношћу. Исто тако, циљ овог истраживања био је испитивање утицаја добијених лиофилизованих екстраката из три врсте гљива на квалитет и биолошку активност индустријски произведене дехидриране супе кроз хемијске, микробиолошке и антиоксидативне анализе; сензорно оцењивање производа и следивост квалитета производа током складиштења.

3. Основне хипотезе од којих се полазило у истраживању

Основна хипотеза постављена на почетку овог истраживања је да се додавањем екстракта гљива у производњи дехидрираних супа добија нови производ који се карактерише повећаном биолошком вредношћу, тј. побољшањем храњивих својстава и сензорног квалитета у поређењу са конвенционалним дехидрираним супама доступним на тржишту, а са друге представља функционални производ.

Посебне хипотезе су:

- вода и етанол представљају погодна средства за екстракцију већине хемијских и биолошки значајних компоненти које су саставни део одабраних врста гљива;
- водени и етанолни екстракти гљива *Suillus* sp., *Coriolus* sp. и *Phellinus* sp. показују добро антиоксидативно, антимикуробно и антиканцерогено деловање;
- постоје разлике у хемијском саставу и биолошкој активности (антиоксидативној, антимикуробној и антиканцерогеној) између воденог и етанолног екстракта три врсте гљива;
- екстракт гљива који се додаје дехидрираним супама може бити замена за употребу адитива мононатријум глутамината;
- екстракти утичу на укупан квалитет дехидриране супе.

4. Кратак опис садржаја дисертације

Увод. У уводу докторске дисертације кандидаткиња је истакла значај и основне карактеристике базидиомицета са освртом на историјат коришћења гљива. Гљиве су одувек третиране као посебна врста хране. Сматрало се да дају снагу ратницима, коришћене су као еликсири живота као и у различите терапеутске сврхе. Због високе нутритивне вредности, данас се гљиве користе као храна или као додатак храни, а њихова медицинска ефикасност и примена изазивају значајно интересовање. Имају изражену арому и користе се као свеже и у прерађеном стању. Нутритивна вредност гљива зависи од порекла мицелијума, од састава супстрата, услова и начина узгоја. Богате су протеинима, угљеним хидратима, мастима, витаминима, аминокиселинама, дијетним

влакнима. Осим плодноносних тела гљива, све је веће интересовање за коришћењем њихових екстраката као богатих извора биолошки активних једињења. Кандидаткиња у наставку објашњава значај функционалне хране, као и значај дехидрираних супа као категорије производа. Поред осталих, на тржишту су заступљене супе од гљива које су познате по својој нутритивној вредности, укусу и функционалним својствима. Истичу се и антиканцерогена, антиатерогена и имуномодулаторна својства ових производа. Ипак, на тржишту се још увек не могу наћи индустријски произведене дехидриране супе обogaћене екстрактима гљива. Очекује се да би овакав производ са повећаном биолошком вредношћу био важан допринос одржавању имунитета и здравља потрошача. Позитиван ефекат конзумирања дехидрираних супа обogaћених екстрактима гљива на здравље потрошача могао би бити одлична допуна дејству лекова или превентива код било које популације. Са аспекта пуне реализације наведеног потенцијала, истраживања о утицају гљива и њихових екстраката на квалитет прехранбених производа су од велике важности. Примена екстраката гљива у прехранбеној индустрији може смањити или заменити многе хемијске адитиве, што доприноси стварању нових и атрактивних производа повећане биолошке вредности са смањеним садржајем синтетских адитива.

Преглед литературе. Ово поглавље се састоји од шест потпоглавља. У првом потпоглављу **Функционална храна** кандидат наводи дефиниције појма функционалне хране, али и објашњава пет група производа које функционална храна обухвата: немодификовану и непрерађену храну, обogaћене производе са додатком нових састојака, обogaћене производе са повећаним садржајем састојака, побољшане производе и модификоване производе. Кандидат је посебно обратила пажњу на *тржиште функционалне хране* истичући значајне методе за имплементацију производа и смањење губитака у инвестирању. Најважнији фактори који утичу на куповину одређеног производа су однос квалитета, цене, практичности и лакоће припремања производа и позитиван утицај на здравље. У оквиру овог потпоглавља, додатно је објашњен значај *гљива као функционалне хране*. Гљиве (*Fungi*, *Mycota* или *Mycetalia*) представљају еукариотске организме, једноставне грађе и убрајају се у најраспрострањеније групе живог света на Земљи још од палеозоику. Захваљујући свом високом нутритивном и терапијском потенцијалу, гљиве могу наћи примену у својству функционалне хране или као извор нутритивних састојака за одржавање и унапређење здравља и квалитета живота. Друго потпоглавље **Значај гљива у људској исхрани** обухвата литературне податке којима се истиче нутритивна вредност гљива и њихов изузетан допринос здрављу потрошача. Дат је преглед нутритивних компоненти различитих врста јестивих и медицинских гљива. Прва употреба гљиве у Европи у лековите сврхе забележена је 3500 година п.н.е. док кинеска фармакопеја документује употребу стотина врста гљива за широк спектар болести. Ипак, гљиве су првенствено познате као деликатес, а пажњу потрошача привлаче њихове укупне сензорне карактеристике и препознатљив *умами* укус. Сложене су морфолошке и физиолошке структуре чији је хемијски састав условљен подручјем у којем расту. Састав плодноносних тела гљиве одражава састав супстрата, а састојци се могу знатно разликовати у зависности од сировина које чине супстрат. Посебну пажњу је кандидат усмерила на *биолошки активне компоненте пореклом из гљива* са акцентом на значај полисахарида, протеина, терпеноида и фенолних једињења обзиром да су ове компоненте предмет бројних истраживања данас. Ова једињења су одговорна за лековита својства гљива, као што су антиоксидативна, имуномодулаторна

својства, антикарциногена, антивирална, антимикробна, хепатопротективна и друга. Истиче се да полисахариди, нарочито β -гљукани имају најизраженије антитуморно, антивирусно и имуномодулаторно дејство. Заједно са полисахаридо–протеинским комплексима, гликопротеини и полисахарид-пептидни комплекси такође врше важну антитуморску и имуномодулаторну активност, док се фенолна једињења издвајају по високом антиоксидативном капацитету. Тритерпени чине једну од највећих група биоактивних једињења која се налазе у медицинским гљивама и показују добру активност против вируса HIV и херпеса, инхибирају синтезу холестерола, смањују ризик од атеросклерозе итд. У оквиру другог потпоглавља објашњена су детаљније *функционална својства гљива* са посебним акцентом на антимикробну активност, антиоксидативну и имуномодулаторну активност различитих врста јестивих и медицинских гљива. Наглашено је да су функционалне карактеристике углавном последица присуства дијетних влакана, биоактивних компоненти, антиоксиданаса, лектина и антимикробних једињења. У трећем потпоглављу **Одабране врсте гљива** кандидаткиња је описала врсте јестивих и медицинских гљива које су коришћене у изради докторске дисертације, *Suillus granulatus*, *Coriolus versicolor* и *Fuscoporia torulosa*. *Suillus granulatus* је самоникла јестива гљива из рода *Suillus*, фамилија Suillaceae. Плодоносно тело ове врсте има низак садржај масти, богато је дијетним влакнима, угљеним хидратима и другим једињењима и зато је укључено у категорију функционалне хране. *Coriolus versicolor*, позната и као *Trametes versicolor* или *Polyporus versicolor*, је уобичајена гљива полипора која је раширена по целом свету. Биолошки активна једињења ове гљиве показују антитуморско, пробиотичко, антиоксидативно, антивирусно, антидијабетичко и имуномодулаторно дејство. *Fuscoporia torulosa* је врста гљиве из рода *Fuscoporia*, фамилија Hymenochaetaceae. Ова гљива расте на дрвету и изазива бело труљење у њиховој унутрашњости. У потпоглављу **Производња супа** укратко је описан поступак припреме дехидрираних супа, кондензованих супа конзервисаних термичком стерилизацијом и супа конзервисаних смрзавањем које се убрајају у три основне категорије супа према FAO/WHO комисији. Дехидриране супе су производи који имају по неколико основних састојака (месо, поврће, масти) и помоћних материјала (со, зачини, моносодијум глутаминат, протеински хидролизати итд.) као коректора укуса. Карактерише их висок садржај суве материје (92 до 95%). Због смањене могућности оксидативних процеса и брзе припреме, ове супе имају значајну предност у односу на остале производе. Такође, дехидриране супе показују значајну стабилност укуса и осталих својстава током периода складиштења, које може да траје и до годину дана. Супе конзервисане термичком стерилизацијом у паковањима која обезбеђују херметичност се веома много производе у свету. У већини случајева су у кондензованом облику јер имају повећану концентрацију суве материје и колоидне суспензије. Одређене супе, које мењају своје карактеристике при конзервисању на повишеним температурама, задржавају непромењену арому када се конзервишу смрзавањем. У делу **Хемијски и нутритивни састав супа** дат је преглед литературних података о саставу супа које су заступљене на тржишту. Наводи се да дехидриране и инстант супе спадају у групу брзе хране, али их карактеришу добар нутритивни састав и корисне су за здравље потрошача. Супе су богате поврћем и разним додацима, као што су гљиве, па су тако познате као производи који не садрже засићене и транс масти, а истовремено су одличан извор дијетних влакана. Последње потпоглавље односи се на **Здравствене користи од конзумирања супа**. Супе се обично конзумирају због здравствених и нутритивних

бенефита, посебно код људи код којих је унос чврсте хране низак из опструктивних или патолошких разлога. У овим околностима супе су најбољи избор за превазилажење недостатка хранљивих састојака. Супе садрже бројне састојке који обезбеђују биљне протеине, угљене хидрате, влакна и минералне материје док се функционални састојци лако могу додати у супе у праху. Сматра се да је начин мешања састојака приликом припрема супа важан параметар који утиче на садржај масти и енергетску вредност производа, а самим тим доприноси повећаној ситости код потрошача.

Циљ истраживања. представљен је на страни 44 докторске дисертације и у тачки 2 овог извештаја.

Материјал и методе. У овом поглављу наведени су коришћени материјали за рад, као и методе рада кроз осам целина. Најпре је урађена **Хемијска анализа свежих гљива** која је укључивала одређивање садржаја укупне влаге, укупне суве материје, садржаја минералних материја и витамина С. Под **Хемијска анализа сувих гљива** описане су анализе садржаја хигроскопске влаге, укупне суве материје, садржаја минералних материја (пепела), садржаја органске материје, укупног садржаја угљених хидрата, витамина С, азота, фосфора, калијума, калцијума, магнезијума, као и одређивање садржаја протеина и масти. У наставку дисертације кандидаткиња је описала поступке **Припреме екстраката**. Припремљене су две врсте екстраката и то водени и етанолни екстракти коришћењем осушених и фино уситњених плодноносних тела гљива *Suillus granulatus*, *Coriolus versicolor* и *Fuscoporia torulosa*. Даље је урађена **Анализа водених и етанолних екстраката гљива** кроз неколико параметара како би се утврдио њихов хемијски састав као и биолошка активност. Најпре је урађена *хемијска карактеризација екстраката* која је обухватала методе анализе полисахарида кроз одређивање садржаја укупних угљених хидрата и α и β -глюкана применом колориметријских метода, као и HPLC анализа моносахаридног састава екстраката. Потом је спектрофотометријски одређен садржај укупних протеина, фенолних једињења и флавоноида, а методе су детаљно описане. Спектри узорака из екстраката гљива снимљени су на FTIR спектрометру коришћењем ATR технике, а потом су екстракти снимљени коришћењем скенирајуће електронске микроскопије. Биолошка својства екстраката одређена су кроз испитивање антимикуробне активности екстраката применом диск дифузионе и микродилуционе методе на пет Грам-позитивних бактерија (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Listeria ivanovii* ATCC 19119 и *Enterococcus faecalis* ATCC 29212), пет Грам-негативних бактерија (*Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729, *Shigella sonnei* ATCC 29930 и *Proteus vulgaris* ATCC 8427) и два квасца (*Candida albicans* ATCC 10259 и *Cryptococcus neoformans* ATCC 76484). Антиоксидативна активност екстраката одређена је применом спектрофотометријских метода одређивањем способности хватања DPPH радикала, одређивање редукционе способности, способности хелирања јона гвожђа и антиоксидативне активности у систему линолеинске киселине. Антиканцерогено дејство водених и етанолних екстраката одабраних врста гљива испитано је кроз одређивање вијабилности испитиваних ћелија помоћу МТТ теста након третмана екстрактима. У целини **Лиофилизација екстраката** дат је детаљан опис припреме лиофилизованих екстраката гљива који ће се даље примењивати за добијање дехидрираних супа, као и поступци за одређивање антимикуробне активности и антиоксидативне активности лиофилизованих екстраката. Целина **Производња дехидрираних супа обогаћених**

лиофилизированим воденим и етанолним екстрактима гљива описује поступак припреме готових производа кроз десет варијанти дехидрираних супа без додатака екстраката гљива, са додатком лиофилизированих водених или етанолних екстраката одабраних врста гљива, као и са додатком лиофилизированих екстраката гљива уз смањен садржај мононатијум глутамината за 50%. Даље је урађена **Анализа дехидрираних супа обогачених лиофилизированим екстрактима гљива** и у овом потпоглављу су детаљно описане хемијске методе анализа производа које су обухватиле одређивање садржаја укупних угљених хидрата, протеина и масти, одређивање енергетске вредности производа као и одређивање садржаја влаге и минералних материја (пепела). Микробиолошка анализа производа укључила је праћење укупног броја аеробних мезофилних бактерија, плесни и *Staphylococcus aureus*, док су антимикуробна активност производа применом диск дифузионе методе и антиоксидативна активност производа оређене применом истих метода које су описане у потпоглављу *Анализа водених и етанолних екстраката гљива*. Инструментална анализа боје производа урађена је коришћењем колориметра Dr Lange, spectro color, док је сензорна анализа дехидрираних супа обогачених лиофилизированим екстрактима гљива извршена према методи бодовања шест карактеристика производа: боје, мириса, укуса, конзистенције, изгледа и укупне прихватљивости. Све анализе извршене су до 90. дана након производње. **Статистичка обрада података**, целина осам, пружа информације о обради добијених резултата анализа применом софтверског пакета SPSS 20.

- **Резултати и дискусија.** Резултати истраживања приказани су табеларно, графички и сликама јасно и прегледно у 8 потпоглавља са више поднаслова, прецизно тумачени. У потпоглављу **Хемијски састав свежих гљива** истакнути су резултати истраживања који указују на то да је медицинска гљива *Coriolus versicolor* показала статистички значајно ($p < 0,05$) највиши садржај укупних угљених хидрата ($45,92 \pm 0,02\%$) у поређењу са гљивама *Suillus granulatus* ($42,10 \pm 0,02\%$) и *Phellinus torulosus* ($40,25 \pm 0,01\%$). Највиши садржај укупне влаге ($83,15 \pm 0,03\%$) и најнижи садржај укупне суве материје ($16,85 \pm 0,02\%$) утврђен је код свеже медицинске гљиве *Coriolus versicolor*. Статистички значајно ($p < 0,05$) највиши садржај органске материје ($97,47 \pm 0,02\%$) и најнижи садржај минералних материја ($2,53 \pm 0,01\%$) у поређењу са другм двама анализираним гљивама, утврђен је у свежој медицинској гљиви *Fuscoporia torulosa*, која исто тако има највиши садржај витамина С ($10,73 \pm 0,03 \text{ mg}/100\text{g}$). У делу у ком се обрађује **хемијски састав сушених гљива** кандидаткиња је истакла податак да је код све три врсте гљива утврђен пораст испитиваних параметара као резултат њихових концентрисања услед испаравања воде сушењем. Највише вредности за укупну суву материју ($90,96 \pm 0,02\%$ с.м.), органске материје ($93,17 \pm 0,03\%$ с.м.) и масти ($1,20 \pm 0,03\%$ с.м.) су добијене у сушеним гљивама *Suillus granulatus*. Највиши садржај азота ($2,53 \pm 0,02\%$ с.м.), калијума ($2,00 \pm 0,01\%$ с.м.), магнезијума ($1,10 \pm 0,03\%$ с.м.), и протеина ($15,81 \pm 0,03\%$ с.м.), утврђен је у сушеним гљивама *Coriolus versicolor*. Гљива *Fuscoporia torulosa* у сушеном облику имала је највиши садржај минералних материја ($8,62 \pm 0,00\%$ с.м.), витамина С ($17,15 \pm 0,01 \text{ mg}/100\text{g}$ с.м.), укупних угљених хидрата ($67,08 \pm 0,03\%$ с.м.), фосфора ($1,22 \pm 0,03\%$ с.м.) и калцијума ($1,35 \pm 0,02\%$ с.м.). **Принос екстраката гљива** при воденој ($35,07 \pm 1,07\%$) и етанолној ($29,82 \pm 2,62\%$) екстракцији у односу на суву материју био је највиши код гљиве *Suillus granulatus*, док је за гљиву *Fuscoporia torulosa* забележен најнижи принос ($17,41 \pm 10,05\%$ са воденом екстракцијом и $15,68 \pm 0,02\%$ са етанолном екстракцијом). У

четвртом потпоглављу **Хемијска карактеризација екстраката гљива**, истакнуто је да се у воденим екстрактима садржај укупних угљених хидрата кретао од 49,05% до 54,08%, при чему се највишим садржајем карактерисао екстракт гљиве *Fuscoporia torulosa*. У етанолним екстрактима, садржај укупних угљених хидрата кретао се од 33,43% до 55,40% у односу на суву материју гљиве, при чему се састатистички значајно ($p < 0,05$) највишим садржај издвајао екстракт гљиве *Fuscoporia torulosa*. Значајно више вредности за садржај глукана забележен је код водених екстраката у поређењу са етанолним екстрактима, а највиши садржај β -глукана утврђен је код обе врсте екстраката *Fuscoporia torulosa*. Са највишим просечним садржајем испитиваних моносахарида ($30,30 \pm 0,01\%$ с.м. екстракта) међу воденим екстрактима издвајао се екстракт гљиве *Suillus granulatus* (ниво значајности $p < 0,05$), док је међу етанолним екстрактима значајно највиши садржај моносахарида ($12,77 \pm 0,03\%$ с.м. екстракта) утврђен у екстракту гљиве *Fuscoporia torulosa*. Водени екстракти гљива *Suillus granulatus* и *Fuscoporia torulosa* показали су статистички значајно ($p < 0,05$) виши садржај протеина ($4,70 \pm 0,50\%$, односно $8,88 \pm 0,25\%$ с.м. екстракта) у поређењу са етанолним екстрактима. У етанолном екстракту из гљиве *Coriolus versicolor* добијен је значајно виши садржај протеина ($7,72 \pm 0,27\%$ с.м. екстракта) у поређењу са његовим воденим екстрактом. Међу воденим екстрактима утврђен је статистички значајно ($p < 0,05$) највиши садржај фенола ($19,85 \pm 1,81\%$ с.м.) код екстракта гљиве *Fuscoporia torulosa*. Етанолни екстракти свих испитиваних гљива имали су виши садржај флавоноида у поређењу са воденим екстрактима, али без статистички значајне разлике. Према IR-ATR уочена је разлика између водених и етанолних екстраката у погледу врсте присутних угљених хидрата, глукана, протеина, фенола и флавоноида, што је главни разлог за разлику у биолошкој активности. СЕМ анализом је утврђено да постоје разлике у микроструктури између водених и етанолних екстраката, као и између истих екстраката различитих врста гљива. Водене екстракте углавном карактерише храпава површина, док је код етанолних екстраката примећена глатка и хетерогена структура. Потпоглавље **Биолошка својства екстраката гљива** садржи резултате и дискусију који се односе на антимикробну, антиоксидативну и антиканцерогену активност екстраката. Водени екстракти показали су боља антимикробна својства у поређењу са етанолним екстрактима. Водени екстракт гљиве *Fuscoporia torulosus* показао је значајно ($p < 0,05$) најбоља антимикробна својства према *Staphylococcus aureus* ($15,7 \pm 0,01$ mm), *Listeria monocytogenes* ($14,5 \pm 0,02$ mm), *Enterococcus faecalis* ($19,0 \pm 0,04$ mm), *Salmonella Enteritidis* ($17,0 \pm 0,03$ mm), *Escherichia coli* ($13,5 \pm 0,02$ mm), *Yersinia enterocolitica* ($16,7 \pm 0,01$ mm), *Shigella sonnei* ($11,2 \pm 0,02$ mm), *Proteus vulgaris* ($16,9 \pm 0,02$ mm) и *Candida albicans* ($26,0 \pm 0,01$ mm). У погледу способности хватања DPPH радикала, генерално, водени екстракти испитиваних гљива показали су бољу антиоксидативну активност, према следећем редоследу: *Fuscoporia torulosa* > *Coriolus versicolor* > *Suillus granulatus*, односно $38,08\% - 82,64\% > 38,04\% - 80,66\% > 35,99\% - 75,25\%$. Према методи коњугованих диена, сви испитивани екстракти показали су боље вредности од аскорбинске киселине при концентрацији од $0,1$ mg/mL, иако су екстракти достигли максималне вредности при концентрацији од 10 mg/mL. При овој концентрацији компетитивни су и са алфа-токоферолом. Најниже IC_{50} вредности су добијене и за етанолни и водени екстракт гљиве *Fuscoporia torulosa* ($0,38 \pm 0,04$ mg/mL, односно $0,49 \pm 0,04$ mg/mL) који су показали статистички значајну разлику ($p < 0,05$) у поређењу са осталим испитиваним екстрактима. Када је у питању способност редукције јона гвожђа,

ниједан испитивани екстракт није био компетитиван позитивној контроли (аскорбинска киселина) ни у једној од испитиваних концентрација. IC₅₀ вредности су се кретале према следећем редоследу: *Fuscoporia torulosa* > *Coriolus versicolor* > *Suillus granulatus* односно 0,09 mg/mL > 0,3 mg/mL > 0,95 mg/mL. Испитивани екстракти гљива показали су статистички значајно ($p < 0,05$) боља антиоксидативна својства у погледу хелирања јона гвожђа у поређењу са лимунском киселином, али ниједан екстракт није био компетитиван са EDTA ни у једној од испитиваних концентрација. Водени екстракти показали су боље вредности у поређењу са етанолним екстрактима, према редоследу: *Fuscoporia torulosa* > *Coriolus versicolor* > *Suillus granulatus*, односно 35,12% – 70,40% > 31,91 – 66,57% > 21,93% – 62,31%. Међу воденим екстрактима најнижа вредност IC₅₀ утврђена је код екстракта гљиве *Fuscoporia torulosa* (1,59 mg/mL). Када се ради о антиканцерогеном деловању, након 24 часа третмана водени екстракти су показали бољу активност према HeLa ћелијама, према редоследу: *Fuscoporia torulosa* > *Coriolus versicolor* > *Suillus granulatus*, односно 44,34% – 75,25% > 38,16% – 73,17% > 33,86% – 66,12%. Утврђена је статистички значајна разлика ($p < 0,05$) између цитотоксичне активности водених и етанолних екстраката. Након 24-часовног третмана HepG2 ћелија, етанолни екстракти гљива *Suillus granulatus* (36,94% – 66,67%) и *Coriolus versicolor* (37,93% – 65,93%) показали су статистички значајно ($p < 0,05$) боље резултате у поређењу са њиховим воденим екстрактима, док је међу екстрактима гљиве *Fuscoporia torulosa* статистички значајно ($p < 0,05$) боље резултате показао водени екстракт (37,25% – 64,85%). **Корелација између биоактивних компонената, антиоксидативне и антиканцерогене активности екстраката гљива указује** на јаку позитивну корелацију између садржаја укупних фенола и способности хватања слободних DPPH радикала ($r = +0.99^{**}$) код водених екстраката све три врсте гљиве, на нивоу значајности 0,01. Утврђена је јака позитивна корелација између садржаја укупних флавоноида и антиоксидативног капацитета у систему линоленске киселине код водених екстраката гљива *Suillus granulatus* ($r = +0.91^{**}$), *Coriolus versicolor* ($r = +0.83^{**}$) и *Fuscoporia torulosa* ($r = +0.92^{**}$), на нивоу значајности 0,01. Утврђена је јака позитивна корелација између садржаја укупних угљених хидрата и ефеката на HeLa ћелије након 72 сата инкубације, односно: *Suillus granulatus* ($r = +0.99^{**}$), *Coriolus versicolor* ($r = +0.92^{**}$) и *Fuscoporia torulosa* ($r = +0.99^{**}$) на нивоу 0,01 у воденим екстрактима и *Suillus granulatus* ($r = +0.90^{**}$), *Coriolus versicolor* ($r = +0.91^{**}$) и *Fuscoporia torulosa* ($r = +0.94^{**}$) на нивоу значајности 0,01 са етанолним екстрактима. **Биолошка карактеризација лиофилизованих екстраката гљива указује** на то да је у лиофилизованим воденим екстрактима гљива примећен нижи губитак антиоксидативне активности са аспекта DPPH теста. Међу воденим екстрактима најмањи губитак утврђен је у екстракту гљиве *Suillus granulatus* (0,95%), а међу етанолним екстрактима најмањи губитак је у екстракту гљиве *Fuscoporia torulosa* (1,13%). Такође, лиофилизовани водени екстракти карактеришу се са статистички значајно ($p < 0,05$) нижом IC₅₀ вредношћу у поређењу са етанолним екстрактима. При методи коњугованих диена, лиофилизовани водени екстракти гљива показали су мање губитке у поређењу са етанолним екстрактима. Добијене су статистички значајно ($p < 0,05$) ниже вредности IC₅₀ са лиофилизованим етанолним екстрактима у поређењу са воденим лиофилизованим екстрактима. Од лиофилизованих водених екстраката статистички значајно ($p < 0,05$) најбоља антимикробна својства показао је екстракт гљиве *Fuscoporia torulosa* према већини испитиваних микроорганизама (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*,

Enterococcus faecalis, *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* и *Candida albicans*). У последњем потпоглављу **Утицај лиофилизованих екстраката гљива на хемијски и нутритивни састав и биолошку активност индустријски произведених дехидрираних супа** кандидаткиња је показала да је додавање лиофилизованих екстраката гљива *Suillus granulatus*, *Coriolus versicolor* и *Fuscoporia torulosa* у индустријски произведеној дехидрираној супи од поврћа допринело побољшању хемијског састава и биолошке активности производа. Са аспекта хемијског састава, у свим варијантама супа са додатком лиофилизованих екстраката гљива, добијене су више вредности током свих дана испитивања у односу на контролну варијанту. Са највишим вредностима садржаја угљених хидрата ($\approx 56,19$ g/100g производа), масти ($\approx 5,78$ g/100g производа) и највишом енергетском вредношћу ($\approx 1131,42$ kJ) одликовале се супе варијанте 7 (дехидрирана супа од поврћа без мононатријум глутамината, а обogaћена лиофилизованим етанолним екстрактом медицинске гљиве *Fuscoporia torulosa*). Супе варијанте 4 (дехидрирана супа од поврћа без мононатријум глутамината, а обogaћена лиофилизованим воденим екстрактом медицинске гљиве *Fuscoporia torulosa*) одликовале су се највећим садржајем протеина ($\approx 9,46$ g/100g производа). Све варијанте супа показале су статистички значајно ($p < 0,05$) јачи антимикуробни потенцијал према испитиваним патогеним микроорганизмима, у поређењу са контролном варијантом. Током свих дана испитивања након производње све варијанте супа су показале константан микробиолошки статус у погледу укупног броја аеробних мезофилних бактерија, а ни у једној од анализираних варијанти није примећено присуство плесни и бактерије *Staphylococcus aureus*. Више вредности за све антиоксидативне тестове су добијене у свим испитиваним варијантама супа обogaћеним лиофилизованим екстрактима гљива, у поређењу са контролном варијантом супе. Најбољу активност, током свих дана испитивања, показао је узорак супе варијанте 4 (дехидрирана супа од поврћа без мононатријум глутамината, а обogaћена лиофилизованим воденим екстрактом медицинске гљиве *Fuscoporia torulosa*). Са аспекта инструментале вредности боје, утврђена је константност за све параметре у свим испитиваним варијантама од 0. до 90. дана након производње, тј. све супе су имале стабилну боју током складиштења, што значи да није било промена у другим хемијским или биолошким параметрима које би довеле до промене боје производа. Све анализиране супе одржале су константан квалитет током периода испитивања. Додавање лиофилизованих екстраката гљива у индустријски произведену дехидрирану супу од поврћа показало је позитиван утицај на сензорне карактеристике крајног производа. Са аспекта максимално могућег квалитета, са статистички значајно ($p < 0,05$) највишом вредношћу одликовале су се супе варијанте 8 (дехидрирана супа од поврћа са 50% мање садржаја мононатријум глутамината, а обogaћена лиофилизованим воденим екстрактом јестиве гљиве *Suillus granulatus*) (82,45%; 83,27%; 81,67%; 83,13%; 81,81%). Квалитет производа је био константан током свих дана испитивања. Водени екстракт гљиве *Suillus granulatus* у комбинацији са смањеном количином мононатријум глутамината показао је најбољи ефекат на испитиване сензорне карактеристике супа, а одмах после њега је био водени екстракт гљиве *Fuscoporia torulosa* у комбинацији са смањеним садржајем мононатријум глутамината.

Закључак. На основу добијених резултата и њихове дискусије кандидаткиња је правилно извела закључке који у потпуности произилазе из добијених резултата. Кандидаткиња закључује да је у све три врсте испитиване гљиве, *Suillus granulatus*, *Coriolus versicolor* и *Fuscoporia torulosa*, утврђен повољан хемијски састав плодноносних тела у свежем стању.

Гљива *Fuscoporia torulosa* садржала је највише органских материја и витамина С, док је највиши садржај угљених хидрата детектован код врсте *Coriolus versicolor*. Процес коморног сушења гљива без примене предтретмана имао је позитиван утицај, тј. код све три врсте гљива утврђен је пораст испитиваних хемијских параметара. Врела водена и етанолна екстракција испитиваних гљива биле су ефикасне методе за екстракцију потребних компоненти, при чему су добијени екстракти богатог хемијског састава и добре биолошке активности. Статистички значајно више вредности за садржај глукана забележен је код водених екстраката у поређењу са етанолним екстрактима, а највиши садржај β -глукана утврђен је код обе врсте екстраката *Fuscoporia torulosa*, док је у воденом екстракту исте врсте нађено највише фенолних једињења. Водени и етанолни екстракти гљива *Coriolus versicolor* и *Fuscoporia torulosa* показали су бољу антимикуробну активност на већину тестираних Грам-позитивних бактерија, док су водени и етанолни екстракти гљиве *Suillus granulatus* показали боље вредности на већину тестираних Грам-негативних бактерија. Водени екстракт гљиве *Fuscoporia torulosa* припада групи антиоксиданаса са јаком антиоксидативном активношћу (1,71), док водени екстракт гљиве *Coriolus versicolor* припада групи антиоксиданаса са умереном антиоксидативном активношћу (0,92). Водени екстракти показали су боља антиоксидативна својства у погледу способности хватања DPPH радикала, способности смањења јона гвожђа и способности хелирања јона гвожђа, док су етанолни екстракти показали боље вредности антиоксидативног теста за редукцију присуства коњугованих диена, што је у корелацији са садржајем биолошки активних компоненти. Након 72 сата инкубације, сви испитивани екстракти дали су боље резултате у антиканцерогеном тесту у поређењу са 24-сатном инкубацијом. Водени екстракт гљиве *Fuscoporia torulosa* показао је најјачу цитотоксичну активност при третману HeLa ћелија, а при третману HepG2 ћелија најјаче антиканцерогено дејство показао је етанолни екстракт гљиве *Coriolus versicolor*. Поступак лиофилизације екстраката показао је позитиван ефекат на њихов антиоксидативни капацитет и антимикуробну активност, где су губици минимални или их уопште нема након 90 дана складиштења производа. Додавање лиофилизованих водених и етанолних екстраката гљива *Suillus granulatus*, *Coriolus versicolor* и *Fuscoporia torulosa* у индустријски произведеној дехидрираној супи од поврћа показало је позитиван ефекат у погледу побољшања хемијског састава, биолошке активности и сензорних карактеристика производа. Водени екстракт гљиве *Suillus granulatus* у комбинацији са смањеном количином мононатријум глутамината показао је најбољи ефекат на испитиване сензорне карактеристике супа, а одмах после њега је био водени екстракт гљиве *Fuscoporia torulosa* у комбинацији са смањеним садржајем мононатријум глутамината. Генерално, супе обогаћене лиофилизованим воденим и етанолним екстрактима гљива без додатка мононатријум глутамината имале су ниже оцене у поређењу са контролном варијантом, али и у односу на варијанте супа у којима је садржај мононатријум глутамината смањен за 50%. Међутим, максимални квалитет свих варијаната је био преко 70%, односно производ је прихватљив за потрошаче. У супама у којима није додат мононатријум глутаминат, прихватљив укус и арома су резултат додатог вргања. На основу изнетих закључака може се донети следећи општи закључак: Добијени лиофилизовани водени и етанолни екстракти гљива *Suillus granulatus*, *Coriolus versicolor* и *Fuscoporia torulosa* су погодни за примену у дехидрираним супама, што резултира производом без примене или са делимичном применом синтетичких адитива.

Литература. У дисертацији је на правилан начин цитирано 405 литературних извора који у потпуности одговарају проблематици која је изучавана.

5. Остварени резултати и научни допринос дисертације

Научни допринос огледа се у примени одговарајућег процеса добијања екстраката одабраних врста јестивих и медицинских гљива, као и у њиховом прилагођавању за даљу употребу у индустријским условима у производњи дехидрираних супа, што има директан утицај на нутритивне особине, квалитет и безбедност новог производа. Остварени резултати истраживања указују на то да ће примена екстраката одабраних врста јестивих и медицинских гљива у производњи индустријских супа допринети побољшању квалитета и биолошке вредности, као и трајности дехидрираних супа.

Практични допринос ове дисертације се огледа у проналажењу потенцијално новог прехранбеног производа са функционалним својствима који је поред побољшаних нутритивних својстава потпуно безбедан за конзумирање међу свим врстама потрошачких група. Због великог значаја коришћења гљива из природних станишта, која представљају важан биолошки ресурс природе, као и због чињенице да нису потребни посебни услови за индустријску производњу, овај производ може имати велики потенцијал на тржишту у поређењу са конвенционалним производима. Све то доприноси светским трендовима и технолошким поступцима, где се правилном употребом екстраката гљива могу постићи жељена својства одређеног производа, што би била потпуна или делимична замена употребе појединих адитива у одређеним сегментима прехранбене индустрије.

6. Објављени и саопштени резултати

Stojanova, M., Pantić, M., Karadelev, M., Čuleva, B., Nikšić, M. (2020): Antioxidant potential of extracts of three mushrooms species collected from the Republic of North Macedonia. *Journal of Food Processing and Preservation* 00:e15155. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15155>.

Stojanova, M., Pantić, M., Paunović, D., Čuleva, B., Nikšić, M. (2021): Determination of antioxidant potential of dehydrated soup enriched with lyophilized mushroom extracts. Book of abstract, str 41. UniFood Conference - *online*, 24-25th September, University of Belgrade, Serbia.

7. Закључак и предлог

Докторска дисертација кандидата мастера Монике Стојанове под насловом: „Примена екстраката одабраних врста јестивих и медицинских гљива у производњи дехидрираних супа као функционалне хране“ представља оригинални научни рад из области прехранбене технологије који је у потпуности реализован у складу са циљевима и предметом истраживања предвиђеним одобреном пријавом дисертације. Примењујући адекватну научну методологију, кандидаткиња је веома успешно обавила експериментални део истраживања, а добијени резултати потврђују постављене хипотезе истраживања. Дискусија резултата је успешно вођена и закључци су добро изведени, у сагласности са добијеним резултатима. Дисертација је технички веома добро организована и написана је прегледно, јасним језиком.

Имајући у виду наведено, а нарочито значај теме, квалитет рада, добијене резултате истраживања и њихов научни и практични допринос, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију мастера Монике Стојанове, под насловом „ *Примена екстраката одабраних врста јестивих и медицинских гљива у производњи дехидрираних супа као функционалне хране*“ и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да усвоји позитивну оцену урађене докторске дисертације и тиме омогући кандидату да је јавно брани.

Београд,
27.10.2021.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Др Милена Пантић, ванредни професор
Пољопривредни факултет,
Универзитет у Београду, председник
(Ужа научна област Технолошка микробиологија)

Др Слађана Шобајић, редовни професор
Фармацеутски факултет,
Универзитет у Београду, члан
(Ужа научна област Броматологија)

Др Анита Клаус, ванредни професор
Пољопривредни факултет,
Универзитет у Београду, члан
(Ужа научна област Технолошка микробиологија)

Др Драгана Пауновић, ванредни професор
Пољопривредни факултет,
Универзитет у Београду, члан
(Ужа научна област Наука о конзервисању и врењу)

Др Дуња Милетић, научни сарадник
Пољопривредни факултет,
Универзитет у Београду, члан
(Ужа научна област Технолошка микробиологија)

ПРИЛОГ:

Објављен рад мастера Монике Стојанове у научном часопису на SCI листи који квалификује кандидата за одбрану дисертације:

Stojanova, M., Pantić, M., Karadelev, M., Čuleva, B., Nikšić, M. (2020): Antioxidant potential of extracts of three mushrooms species collected from the Republic of North Macedonia. *Journal of Food Processing and Preservation* 00:e15155. ISSN: 1745-4549, IF(2020):2.190. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15155>.