

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ		
1. Датум и орган који је именовao комисију: На 59. седници Наставно-научног већа Технолошког факултета Нови Сад (период одржавања 31.03.2023.) именована је Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата маг. инж. технол. Милице Перовић под насловом „Протеини леблебије ( <i>Cicer arietinum</i> L.) – ензимска екстракција, карактеризација и модификација у наноструктуре погодне за унапређену примену”.		
2. Састав комисије у складу са <i>Правилима докторских студија Универзитета у Новом Саду</i> :		
1. Шћибан Марина презиме и име	редовни професор звање	Биотехнологија 24.07.2014. ужа научна област и датум избора
Технолошки факултет Нови Сад установа у којој је запослен-а		председник комисије функција у комисији
2. Антов Мирјана презиме и име	редовни професор звање	Биотехнологија 01.07.2011. ужа научна област и датум избора
Технолошки факултет Нови Сад установа у којој је запослен-а		ментор функција у комисији
3. Пајин Биљана презиме и име	редовни професор звање	Прехрамбено инжењерство 02.06.2015. ужа научна област и датум избора
Технолошки факултет Нови Сад установа у којој је запослен-а		члан комисије функција у комисији
4. Кнежевић Југовић Зорица презиме и име	редовни професор звање	Биохемијско инжењерство и биотехнологија 22.01.2014. ужа научна област и датум избора
Технолошко-металуршки факултет установа у којој је запослен-а		члан комисије функција у комисији
5. Безбрадица Дејан презиме и име	редовни професор звање	Биохемијско инжењерство и биотехнологија 20.06.2018. ужа научна област и датум избора
Технолошко-металуршки факултет установа у којој је запослен-а		члан комисије функција у комисији
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ		

<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: <b>Милица, Неђо, Перовић</b></p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: <b>16.03.1992. године, Врбас, Република Србија</b></p> <p>3. Назив факултета, назив претходно завршеног нивоа студија и стечени стручни/академски назив: <b>Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, Биотехнологија, Биохемијско инжењерство, мастер инжењер технологије.</b></p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија: <b>2016. година, Биотехнологија</b></p>
<p><b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b></p> <p><b>Протеини леблебије (<i>Cicer arietinum</i> L.) – ензимска екстракција, карактеризација и модификација у наноструктуре погодне за унапређену примену</b></p>
<p><b>IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b> Навести кратак садржај са назнаком броја страница, поглавља, слика, схема, графикона и сл.</p> <p>Докторска дисертација је написана на српском језику, латиничним писмом на 117 страница А4 формата, са 38 слика, 24 табеле и 277 литературних навода.</p> <p>Кључна документацијска информација је написана на српском и енглеском језику и приложена је након насловне стране.</p> <p>Списак поглавља:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Увод (стр. 1 - 2)</li> <li>2. Теоријски део (стр. 3 - 22)</li> <li>3. Материјали и методе (стр. 23 - 32)</li> <li>4. Резултати и дискусија (стр. 33 - 86)</li> <li>5. Закључци (стр. 87 - 89)</li> <li>6. Литература (стр. 90 - 109)</li> <li>7. Прилози (стр. 110 - 112)</li> </ol>
<p><b>V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b></p> <p>У <b>Уводу</b> докторске дисертације истакнута је актуелност и важност тематике која је предмет спроведеног истраживања. Указано је на потребе тржишта за алтернативним изворима протеина који би могли да замене традиционалне животињске, и то, конкретно, на оне биљног порекла. Фокус је био усмерен на леблебију као биљну сировину која је богата протеинима изузетног квалитета. Надаље, истакнута је важност избора одговарајућег поступка екстракције који ће омогућити што већи принос жељеног биомолекула али и очување његових функционалних и биолошких особина. С обзиром на савремене трендове прехранбене индустрије, посебно је наглашена потреба за модификацијом протеина у протеинске наноструктуре које би представљале носаче погодне за инкорпорирање различитих биоактивних супстанци у храну. Ово поглавље сумира и циљеве докторске дисертације који су формулисани на јасан и недвосмислен начин.</p> <p>Подаци доступни у стручној литератури из области истраживања обрађени су у другом поглављу под називом <b>Теоријски део</b>. Ово поглавље подељено је у шест засебних потпоглавља. У првом потпоглављу, <i>Биљни протеини</i>, детаљно се износе досадашњи литературни подаци везани за протеине, њихов значај у људској исхрани, предности које доносе биљни протеини у односу на животињске, као и који су најпознатији извори истих. У другом потпоглављу, <i>Леблебија као извор протеина</i>, опширно је описана леблебија (<i>Cicer arietinum</i> L.) као важна махунарка и богат извор различитих биоактивних једињења</p>

међу којима је примат дат протеинима. Наведене су сорте леблебије, порекло и подручје конзумације, као и њен нутритивни састав. Треће потпоглавље, *Протеин леблебије*, детаљно описује протеин и фракције протеина из леблебије, њихова својства, састав и структуру. У четвртом потпоглављу, *Функционалне особине протеина махунарки*, дат је осврт на потенцијал коришћења протеина и протеинских фракција из леблебије и, генерално, протеина махунарки у прехранбеној индустрији. Њихова примена заснива се на добрим функционалним особинама које у највећој мери одређују њихово понашање и улогу у прехранбеним системима. Пето потпоглавље, *Екстракција протеина из биљних извора*, даје преглед доступних метода за екстракцију протеина, наглашавајући њихове предности и недостатке. Обрађена је алкална екстракција, као широко распрострањен конвенционални метод екстракције протеина. Наведени су услови под којима се одвија овај тип екстракције, као и начин на који утиче на структуру екстрахованих протеина. Додатно, описана је и ензимима потпомогнута екстракција протеина која истиче специфичности ензима и њихово коришћење као агенаса који могу повећати принос екстракције протеина и очувати њихове функционалне и биолошке особине током овог процеса. Дат је и преглед досадашње употребе многих карбохидраза и протеаза за екстракцију протеина из различитих биљних сировина. У последњем, шестом потпоглављу, под називом *Нанобиотехнологија у прехранбеној индустрији*, детаљно је описана нанобиотехнологија као мултидисциплинарна технолошка и научна област која се у последње време веома брзо развија. Дати су подаци о тренутном стању светског тржишта хране са освртом на позитивне ефекте примене нанобиотехнологије у различитим областима. Објашњена је употреба протеина као наноструктура за унапређену примену, механизми помоћу којих се стварају протеинске наноструктуре, као и различите могућности примене наночестица у прехранбеној индустрији. Приказани литературни наводи истакли су потенцијал инкорпорације различитих биоактивних једињења у храну уз помоћ наночестица припремљених од протеина из различитих извора.

Поглавље **Материјал и методи** подељено је у једанаест целина. Прва и друга целина садрже неопходне информације о полазној сировини која је одабрана за истраживање. У трећој, четвртој и петој целини следи детаљан опис поступка добијања протеинских изолата и фракција протеина леблебије, са коришћеним хемикалијама и инструментима. Шеста целина описује и адекватно цитира све стандардне методе које су коришћене за одређивање хемијског састава добијених изолата и фракција протеина. У седмој целини детаљно су описани поступци припреме узорка и раздвајања протеина уз помоћ препаративне хроматографије са хидрофобним интеракцијама. Осма целина базирана је на аналитичким методима и оним које се широко користе у научно-истраживачком раду за карактеризацију протеинских изолата и фракција протеина и одређивање њихових функционалних и биолошких особина. Експерименталне процедуре које су испитане за припрему протеинских наночестица из добијених изолата и фракција протеина дате су у деветом потпоглављу док десето потпоглавље описује карактеризацију истих. У једанаестој целини представљен је начин на који је извршена статистичка обрада добијених резултата.

**Резултати и дискусија** су најобимније поглавље, у оквиру ког су сумирани добијени резултати из појединачних фаза истраживања, уз статистичку обраду података. Ово поглавље је подељено у пет потпоглавља у којима су резултати приказани у оквиру 21 табеле и 29 слика. Дискусија резултата је садржајна и аргументована, уз осврт на публиковане резултате других аутора. У првом потпоглављу, *Протеински изолати леблебије и њихова својства*, обухваћени су резултати екстракције протеина из леблебије уз помоћ комерцијалних ензима за разградњу ћелијског зида биљака у комбинацији са конвенционалним методом алкалне екстракције. Поред фокуса на побољшање приноса



међу којима је примат дат протеинима. Наведене су сорте леблебије, порекло и подручје конзумације, као и њен нутритивни састав. Треће потпоглавље, *Протеин леблебије*, детаљно описује протеин и фракције протеина из леблебије, њихова својства, састав и структуру. У четвртом потпоглављу, *Функционалне особине протеина махунарки*, дат је осврт на потенцијал коришћења протеина и протеинских фракција из леблебије и, генерално, протеина махунарки у прехранбеној индустрији. Њихова примена заснива се на добрим функционалним особинама које у највећој мери одређују њихово понашање и улогу у прехранбеним системима. Пето потпоглавље, *Екстракција протеина из биљних извора*, даје преглед доступних метода за екстракцију протеина, наглашавајући њихове предности и недостатке. Обрађена је алкална екстракција, као широко распрострањен конвенционални метод екстракције протеина. Наведени су услови под којима се одвија овај тип екстракције, као и начин на који утиче на структуру екстрахованих протеина. Додатно, описана је и ензимима потпомогнута екстракција протеина која истиче специфичности ензима и њихово коришћење као агенаса који могу повећати принос екстракције протеина и очувати њихове функционалне и биолошке особине током овог процеса. Дат је и преглед досадашње употребе многих карбохидраза и протеаза за екстракцију протеина из различитих биљних сировина. У последњем, шестом потпоглављу, под називом *Нанобиотехнологија у прехранбеној индустрији*, детаљно је описана нанобиотехнологија као мултидисциплинарна технолошка и научна област која се у последње време веома брзо развија. Дати су подаци о тренутном стању светског тржишта хране са освртом на позитивне ефекте примене нанобиотехнологије у различитим областима. Објашњена је употреба протеина као наноструктура за унапређену примену, механизми помоћу којих се стварају протеинске наноструктуре, као и различите могућности примене наночестица у прехранбеној индустрији. Приказани литературни наводи истакли су потенцијал инкорпорације различитих биоактивних једињења у храну уз помоћ наночестица припремљених од протеина из различитих извора.

Поглавље **Материјал и методи** подељено је у једанаест целина. Прва и друга целина садрже неопходне информације о полазној сировини која је одабрана за истраживање. У трећој, четвртој и петој целини следи детаљан опис поступка добијања протеинских изолата и фракција протеина леблебије, са коришћеним хемикалијама и инструментима. Шеста целина описује и адекватно цитира све стандардне методе које су коришћене за одређивање хемијског састава добијених изолата и фракција протеина. У седмој целини детаљно су описани поступци припреме узорка и раздвајања протеина уз помоћ препаративне хроматографије са хидрофобним интеракцијама. Осма целина базирана је на аналитичким методима и оним које се широко користе у научно-истраживачком раду за карактеризацију протеинских изолата и фракција протеина и одређивање њихових функционалних и биолошких особина. Експерименталне процедуре које су испитане за припрему протеинских наночестица из добијених изолата и фракција протеина дате су у деветом потпоглављу док десето потпоглавље описује карактеризацију истих. У једанаестој целини представљен је начин на који је извршена статистичка обрада добијених резултата.

**Резултати и дискусија** су најобимније поглавље, у оквиру ког су сумирани добијени резултати из појединачних фаза истраживања, уз статистичку обраду података. Ово поглавље је подељено у пет потпоглавља у којима су резултати приказани у оквиру 21 табеле и 29 слика. Дискусија резултата је садржајна и аргументована, уз осврт на публиковане резултате других аутора. У првом потпоглављу, *Протеински изолати леблебије и њихова својства*, обухваћени су резултати екстракције протеина из леблебије уз помоћ комерцијалних ензима за разградњу ћелијског зида биљака у комбинацији са конвенционалним методом алкалне екстракције. Поред фокуса на побољшање приноса



протеина ензимским претретманом, анализирани су и функционалне и биолошке особине добијених изолата (растворљивост, стварање пене, емулговање, капацитети задржавања воде и уља, *in vitro* антиоксидативна активност итд.) у циљу дефинисања услова за добијање изолата побољшаних својстава која представљају главни потенцијал њиховог коришћења. У другом потпоглављу, *Наночестице припремљене из протеинских изолата леблебије*, испитана је могућност припреме протеинских наноструктура модификацијом протеина изолованих из леблебије, за потребе њихове унапређене примене. У овом потпоглављу су представљени резултати испитивања утицаја времена термичког третмана, температуре и рН вредности на најважније карактеристике протеинских наночестица - величину, стабилност током времена, хидрофобност, као и могућност везивања хидрофилних и хидрофобних супстанци. Треће потпоглавље, *Раздвајање протеина леблебије препаративном хроматографијом са хидрофобним интеракцијама*, детаљно описује раздвајање добијеног протеинског изолата леблебије препаративном хроматографијом са хидрофобним интеракцијама и анализирање раздвојених фракција у погледу електрофоретског профила, удела елемената секундарне структуре, као и њихове *in vitro* антиоксидативне активности. Предмет истраживања четвртог потпоглавља, *Фракције протеина леблебије и њихова својства*, представља резултате издвајања фракција протеина леблебије (албумина, глобулина и глутелина) секвенцијалном екстракцијом и одређивање њиховог хемијског састава, аминокиселинског састава, као и електрофоретског профила. Функционалност и *in vitro* антиоксидативне особине албуминске, глобулинске и глутелинске фракције евалуиране су одређивањем њихове растворљивости, капацитета задржавања воде и уља, емулгујућих карактеристика, могућности пењења и *in vitro* антиоксидативне активности. Петим потпоглављем, *Наночестице припремљене из фракција протеина леблебије*, обухваћена је припрема и карактеризација наночестица од фракција албумина, глобулина и глутелина леблебије применом термичког третмана. Добијене наночестице анализирани су у погледу величине честица, хидрофобности, капацитета везивања хидрофобних и хидрофилних супстанци. Додатно, одређена је и *in vitro* антиоксидативна активност припремљених наночестица.

У складу са дефинисаним циљевима докторске дисертације, у поглављу **Закључци** систематизована су закључна разматрања изведена из резултата и њихове дискусије.

Поглавље **Литература** обухвата 277 литературних навода који су прегледно систематизовани и правилно цитирани. Изабране референце су актуелне и адекватне проучаваној тематици.

У поглављу **Прилози** дати су додатни резултати истраживања, приказани на три слике.

Поред наведених поглавља, дисертацију чини и **Садржај** и **Резиме на српском и енглеском језику**, који претходе основном тексту, као и **Кључна документацијска информација са сажетком на српском и енглеском језику**. На крају докторске дисертације налази се **План третмана података**.

#### **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.

M21a – Рад у врхунском међународном часопису

Perović Milica, Pajin Biljana, Antov Mirjana (2022). The effect of enzymatic pretreatment of chickpea on functional properties and antioxidant activity of alkaline protein isolate. *Food Chemistry*, 374, 131809.

M21 – Рад у врхунском међународном часопису

Perović Milica, Antov Mirjana (2022). The influence of enzymatic pretreatment of chickpea on properties of protein nanoparticles prepared by heat treatment. *LWT*, 163, 113545.

## VII ZAKЉUČCI OДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА:

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације су била усмерена на испитивање комбинованих техника ензимима олакшане алкалне екстракције протеина из семена леблебије (*Cicer arietinum* L.) са циљем добијања изолата у већем приносу и са побољшаним функционалним и антиоксидативним особинама. Поред тога, секвенцијалном екстракцијом су изоловане и окарактерисане албуминска, глобулинска и глутелинска фракција протеина леблебије, са циљем дубљег сагледавања структурних карактеристика, и функционалних и антиоксидативних својстава протеинских изолата као смеша ових фракција. Такође, испитане су и модификације добијених протеинских изолата и фракција протеина у циљу добијања протеинских наноструктура које би представљале носаче погодне за инкорпорирање различитих биоактивних једињења у храну.

Из истраживања спроведених у оквиру ове докторске дисертације проистекли су следећи закључци:

❖ Ензими за разградњу ћелијског зида биљака, који су појединачно или у различитим комбинацијама тестирани у третману обезмашћеног семена леблебије пре алкалне екстракције (ALK), омогућили су значајно повећање концентрације протеина леблебије у екстракту, у односу на алкалну и контролну (К) екстракцију. Међу њима, највеће вредности мереног показатеља ефикасности претретмана остварене су у екстракцијама са арабинофуранозидазом (ARA), ксиланазом (X) и комбинацијом ксиланазе и целулаза (X+C), са значајном разликом у односу на ALK и К екстракције.

❖ Алкалним поступком екстраховано је приближно две трећине укупних протеина из обезмашћене леблебије, односно његова ефикасност је износила 68%. Када је примењен ензимски претретман, без обзира да ли је коришћена појединачна арабинофуранозидаза или комбинација целулаза и ксиланазе, дошло је до скоро потпуне екстракције протеина из обезмашћене леблебије, што је резултирало ефикасношћу екстракције изнад 90% у оба случаја. Ензимски претретман омогућио је веома значајно побољшање приноса протеина и ефикасности екстракције за више од 25% у поређењу са самом алкалном екстракцијом.

❖ На основу FTIR анализе закључено је да су постојале значајне разлике међу ALK-, ARA- и (X+C)-протеинским изолатима које су се највише односиле на садржај  $\alpha$ -хеликса и  $\beta$ -равни/ $\beta$ -завоја. Наиме, удео  $\alpha$ -хеликса у секундарној структури протеина био је већи у ARA- и (X+C)-изолатима и, супротно, удео  $\beta$ -равни био је већи у секундарној структури ALK-изолата. Ове разлике могу указивати на различит састав изолата у смислу односа између албумина (ALB), глобулина (GLO) и глутелина (GLU) у њима, као резултата различитих протокола екстракције. FTIR анализа фракција протеина показала је да је у албуминској и глобулинској фракцији протеина леблебије био доминантан удео  $\beta$ -равни, док је глутелинска фракција садржала већи проценат насумичних калемова и  $\alpha$ -хеликса у односу на друге две. Стога су резултати FTIR анализе протеинских изолата добијених из ензимски потпомогнутих екстракција били конзистентни са резултатима FTIR анализе фракција протеина и претпоставком да је у изолатима добијеним у ензимима потпомогнутим екстракцијама био повећан удео глутелинске фракције.

❖ SDS PAGE је показала сличан протеински профил ALK-, ARA- и (X+C)-изолата са



тракама карактеристичним за протеине леблебије, с том разликом да је у изолатима добијеним у екстракцијама потпомогнутим ензимима протеинска трака на ~55 kDa била израженија у поређењу са изолатом из алкалне екстракције. Ова протеинска трака се може приписати једној од подјединица глутелина, чије израженије присуство је било омогућено побољшаним ослобађањем ове фракције из котиледона и омотача семена леблебије применом ензима. Претпоставка о већем присуству глутелинске фракције у изолатима добијеним екстракцијама потпомогнутим ензимима потврђена је резултатима анализе електрофоретских профила фракција протеина леблебије. Ови резултати су показали да је за ALB фракцију било карактеристично постојање трака мањих молекулских маса од ~7 и ~25 kDa, GLO фракцију постојање најинтензивнијих трака са молекулским масама од 20 kDa и 35 kDa, док је трака на ~55 kDa у глутелину леблебије представљала типичну подјединицу ове фракције.

❖ Резултати аминокиселинског састава су показали да су у свим протеинским изолатима леблебије доминантно биле присутне глутаминска и аспарагинска киселина, док су следеће по заступљености биле аргинин и леуцин. Ензимски третман довео је до веома значајног повећања садржаја тирозина и смањења садржаја глутаминске киселине и валина у ензимски екстрахованим протеинским изолатима у односу на алкални изолат. Ови резултати су били у доброј сагласности са резултатима анализе аминокиселинског састава фракција протеина. Наиме, све фракције су имале највећи садржај глутаминске и аспарагинске киселине. Такође, значајно већи садржај тирозина у изолатима из ензимима потпомогнутих екстракција је био у доброј сагласности са значајно већим садржајем ове аминокиселине у глутелинској фракцији протеина леблебије у односу на друге две фракције протеина.

❖ Примена индивидуалне арабинофуранозидазе и комбинације целулаза и ксиланазе у третманима које су претходили алкалној екстракцији повећала је растворљивост протеинских изолата у поређењу са изолатом из алкалне екстракције. Веће вредности капацитета задржавања воде (WHC) и капацитета задржавања уља (OHC), боље емулгујуће карактеристике и својстава пењења су такође добијене за ARA- и (X+C)-изолате у односу на ALK-изолат. С друге стране, функционалне особине фракција протеина су показале добро слагање супериорнијих резултата капацитета задржавања воде и уља, емулгујућих особина и својстава пењења код глутелинске фракције (у односу на друге две фракције) са резултатима за ова својства протеинских изолата. Ово је представљало још један показатељ да су протеински изолати добијени алкалном екстракцијом након ензимског претретмана испољили супериорније функционалне особине због повећаног удела глутелина у њима.

❖ Поред побољшања функционалних особина, ензимски претретман је веома значајно повећао антиоксидативни потенцијал алкалног протеинског изолата мерен његовом способношћу да уклони ABTS<sup>•+</sup> радикале. Претретман арабинофуранозидазом, и комбинацијом целулаза и ксиланазе побољшао је *in vitro* антиоксидативну активност алкалног изолата за 70%, односно више од 100%, редом. С друге стране, анализа *in vitro* антиоксидативне активности фракција протеина леблебије показала је да је албуминска фракција испољила највећу а глутелинска најмању способност уклањања ABTS<sup>•+</sup> радикала. Добијени резултати могу бити објашњени чињеницом да неке особине протеинског изолата могу представљати сложену а не једноставну збирну функцију појединачних својстава протеинских фракција, па тако и својства протеинских изолата могу бити боља од збира доприноса појединачних фракција које се у њима налазе.

❖ Препаративном хроматографијом са хидрофобним интеракцијама раздвојени су протеини АРА-изолата леблебије. Анализа елемената секундарне структуре протеина елуираних у градијентним корацима је показала да је највећи садржај β-равни био у оним фракцијама које су последње елуиране са колоне, и обрнуто. Протеински профили елуираних фракција су потврдили да су, у примењеним условима, фракције релативно највеће хидрофобности имале протеинске траке на ~70 kDa, као подјединице глобулина леблебије, и траке нижих молекулских маса, као протеина албуминске фракције, које нису биле уочене у другим фракцијама. Хидрофобније фракције су такође испољиле већу *in vitro* антиоксидативну активност у односу на остале, што је у сагласности са претпоставком да јаче хидрофобне интеракције побољшавају контакт са слободним радикалима и олакшавају њихово уклањање.

❖ Најмање наночестице припремљене су од протеинског изолата добијеног из алкалне екстракције потпомогнуте комбинацијом целулазе и ксиланазе, при већој испитиваној вредности рН. Ове наночестице показале су и бољу стабилност током складиштења и већу *in vitro* антиоксидативну активност у односу на наночестице припремљене од алкалног изолата. Протеински изолат екстрахован уз помоћ арабинофуранозидазе омогућио је припрему наночестица са највећим капацитетом везивања линолне киселине на обе испитиване рН. Резултати карактеристика наноструктура добијених из фракција протеина леблебије су показали да наночестице добијене од глутелинске фракције поседују најмању величину наночестица, велику стабилност током складиштења као и високу *in vitro* антиоксидативну активност. Примећено је добро слагање супериорнијих резултата наночестица припремљених из глутелинске фракције са резултатима за ова својства наночестица припремљених од протеинских изолата из ензимима потпомогнутих екстракција, што је у складу са претпоставком да је у њима присутан већи удео глутелина. Додатно, наночестице припремљене од албуминске фракције показале су генерално већи капацитет везивања линолне киселине, као сложене функције величине и површинске хидрофобности, у односу на наночестице из друге две фракције, уз такође изражену *in vitro* антиоксидативну активност.

#### **VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА:**

Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Успешно и у целости су спроведена истраживања која су била предвиђена планом датим у пријави ове дисертације. Забележени резултати су добијени из оригинално постављених експеримената, у складу са дефинисаним циљевима. Резултати истраживања су приказани на систематичан и прегледан начин, у виду табела и слика. Тумачењем добијених резултата донети су одговарајући закључци који дају адекватне одговоре на постављене задатке ове докторске дисертације. На основу свега наведеног, Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачења резултата истраживања.

## **IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

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:

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

**Да, докторска дисертација је у потпуности урађена и написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.**

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе?

**Да, докторска дисертација садржи све битне елементе.**

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци?

Последњих година, велико интересовање научне и стручне јавности је усмерено на изолацију биљних протеина због њихове све интензивније примене у прехранбеној и осталим индустријама. Истраживања у оквиру ове докторске дисертације дају оригиналан допринос науци кроз испитивање леблебије као високовредне биљне сировине која се може користити за припрему протеинских концентрата и изолата. С обзиром на чињеницу да се биљни протеини у ћелијама налазе у структурама специјализованим за њихово складиштење али и у другим структурама, поступак њихове екстракције може бити отежан. Посебан допринос ове дисертације је идеја о употреби ензима који могу деполимеризовати и разградити компоненте ћелијског зида леблебије, па самим тим побољшати екстракциони принос протеина из ове биљне сировине. Додатно се истиче податак да истраживања о употреби ензима са циљем побољшања екстракције протеина из леблебије нису још спроведена. Поред тога, ова дисертација даје и резултате о екстракцији и карактеризацији албуминске, глобулинске и глутелинске фракције протеина леблебије, са циљем дубљег сагледавања структурних карактеристика, и функционалних и антиоксидативних својстава протеинских изолата као смеша ових фракција.

Значајан допринос дат је и детаљном карактеризацијом добијених протеинских изолата како би био сагледан и ефекат ензимских претретмана сировине на функционалне и антиоксидативне особине добијених изолата. Функционална својства протеина представљају изузетно важну особину која у највећој мери одређују њихово понашање и улогу у прехранбеним системима. Оригинални допринос добијених резултата истраживања и изведених закључака указује да ензимски потпомогнуте екстракције, поред побољшања приноса протеина из леблебије, утичу и на унапређење њихових биолошких и функционалних својстава. Растворљивост, емулгујуће и особине пењења, капацитети задржавања воде и уља, као и *in vitro* антиоксидативна активност протеинских изолата из ензимима потпомогнутих екстракција били су супериорнији у односу на ова својства изолата из конвенционалне алкалне екстракције. Разлике могу проистацати из различитог састава изолата у смислу односа између фракција протеина (албумина, глобулина и глутелина) у њима, као резултата различитих протокола екстракције. Унапређење функционалних и антиоксидативних особина протеинских изолата из леблебије доприноси значају истраживања реализованих у оквиру ове дисертације и додатно упућује на велики потенцијал њиховог коришћења у прехранбеној индустрији.

У новије време, протеини добијају још једну важну улогу; наиме, протеинске наноструктуре се могу користити као носачи за различита биоактивна једињења у циљу



њиховог побољшаног инкорпорирања у храну. Ова докторска дисертација дала је резултате о модификацији добијених протеинских изолата и фракција протеина под одређеним условима у протеинске наноструктуре. Оригинални допринос науци огледа се и у карактеризацији припремљених наночестица, одређивању њихових најважнијих карактеристика и својстава (величине честица, хидрофобности, капацитета везивања линолне и аскорбинске киселине итд.), значајних првенствено за њихово инкорпорирање у храну и могућност добијања висококвалитетних и тржишно конкурентних прехранбених производа.

4. Који су недостаци дисертације и какав је њихов утицај на резултат истраживања?

**Нису уочени недостаци у овој докторској дисертацији.**

**X ПРЕДЛОГ:**

На основу наведеног, комисија предлаже:

**а) да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана;**

б) да се докторска дисертација врати кандидату на дораду (да се допуни односно измени);

в) да се докторска дисертација одбије.

Место и датум:

Нови Сад, 06.04.2023.

др Марина Шћибан, редовни професор

др Мирјана Антов, редовни професор

др Биљана Пајин, редовни професор

др Зорица Кнежевић Југовић, редовни  
професор

др Дејан Безбрадица, редовни професор  
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.