

ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ружица Томичић, дипл. инж. технологије - мастер

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ	
1.	Датум и орган који је именовео комисију 30.03.2018. године, Наставно-научно веће Технолошког факултета Нови Сад
2.	Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен: <ul style="list-style-type: none"> • Проф. др Јована Граховац, ванредни професор, Биотехнологија, 01.10.2017. године, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, председник комисије • Проф. др Синиша Додић, редовни професор, Биотехнологија, 12.03.2013. године, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, ментор • Проф. др Петер Распор, редовни професор, Биотехнологија, 28.10.1997. године, Факултет здравствених наука, Универзитет Приморска, Словенија, ментор • Проф. др Драгиша Савић, редовни професор, Прехрамбене технологије и биотехнологија, 30.03.2008. године, Технолошки факултет у Лесковцу, Универзитет у Нишу, члан
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ	
1.	Име, име једног родитеља, презиме: Ружица, Милорад, Томичић
2.	Датум рођења, општина, држава: 29.01.1985, Нови Сад, Република Србија
3.	Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, Прехрамбена биотехнологија, Дипломирани инжењер технологије - мастер
4.	Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2009, Биотехнологија
5.	Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: -
6.	Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: -
III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:	
Утицај фактора средине на адхезију квасаца на абиотичке површине	

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са назнаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикана и сл.

Докторска дисертација кандидата Ружице Томичић јасно је написана и изложена у 8 поглавља:

1. Увод (стр. 1)
2. Преглед литературе (стр. 2-23)
3. Циљ и хипотезе истраживања (стр. 24)
4. Материјал и методе (стр. 25-39)
5. Резултати и дискусија (стр. 40-60)
6. Закључак (стр. 61-62)
7. Литература (стр. 63-77)
8. Прилози (стр. 79-80)

Дисертација је написана на 80 нумерисаних страница А4 формата, у 8 поглавља са 6 табела, 17 слика и 2 прилога.

Цитирано је 175 литературних навода, а на почетку су дате кључне документацијске информације са кратким изводом на српском и енглеском изводу.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Наслов докторске дисертације је јасано формулисан и у складу са тематиком дисертације.

У **уводном делу** докторске дисертације, кандидат Ружица Томичић је на јасан, систематичан и сажет начин приказала циљ и оправданост теме истраживања. Истакнут је значај биофилмова које квасци формирају на различитим врстама материјала у погонима прехранбене индустрије, и тиме постају извори дуготрајне и понављане контаминације намирница, што доводи до великих економских губитака и може да штете здрављу потрошача. У наставку уводног дела кандидат указује на значај истраживања и разумевање механизма адхезије једног од најважнијег рода квасаца патогених за људе, *Candida*. Указано је да на адхезију квасаца утичу различити фактори као што су карактеристике површине ћелије (хидрофобност површине ћелије, наелектрисање), фактори средине (температура, рН, медијум) и особине површине материјала (храпавост површине, слободна површинска енергија, хемијска својства, хидрофобност). Међутим, тренутно разумевање адхезије и колонизације квасаца на абиотичке површине је ограничено на само неке врсте рода *Candida*, а нарочито мало се зна о врстама рода *Pichia* као адхезивним агенсима.

Поглавље **Преглед литературе** обухвата шест целина у којима је кандидат систематизовао основне сегменте обрађене у дисертацији. У првом делу овог поглавља кандидат је приказао основне карактеристике квасаца, њихову природну распрострањеност и карактеристике инфекција које изазивају код људи. У другом делу прегледа литературе приказани су релевантни подаци о биофилму *Candida*: дефиниција биофилма, фазе формирања, структура, екстрацелуларни матрикс (ЕЦМ) са акцентом на структурне компоненте ЕЦМ врста рода *Candida*. Кандидат у оквиру овог дела указује на последице формирања биофилма у биотехнолошкој индустрији. Трећи део прегледа литературе је посвећен различитим факторима који утичу на формирање биофилма, ту спадају хидрофобност површине ћелије, температура, медијум, својства супстрата. У четвртном делу овог поглавља наведене су контактне површине које су најчешће колонизоване микроорганизмима. У петом делу прегледа литературе детаљно су описане најчешће коришћене методе за квантификацију биофилма као што су колориметријски тестови, одређивање суве биомасе, одређивање броја ћелија које формирају колонију (colony forming units, CFU), мерење АТП биолуминисценције. Шести део је посвећен биљним екстрактима. У оквиру овог дела приказани су механизми антимикуробног деловања као и утицај антимикуробних средстава на биофилм.

Циљеви испитивања су јасно дефинисани и односе се на:

- одређивање хидрофобности површине ћелије сојева квасаца *Candida* и *Pichia*;
- квантитативно одређивање адхерираних ћелија сојева квасаца *Candida* и *Pichia* на полистирен површину и на дискове од нерђајућег челика (AISI 304) са различитим степеном храпавости површине ($R_a = 25,20 - 961,9 \text{ nm}$);
- одређивање броја адхерираних ћелија сојева квасаца *Candida* и *Pichia* на два типа дрвених површина (буква, глатка и храпава) аутоматским бројањем вијабилних ћелија;
- испитивање утицаја температуре и медијума на адхеизију одабраних сојева квасаца *Candida* и *Pichia* на површине дискова од нерђајућег челика;
- одређивање минималне инхибиторне концентрације (MIC) биљних екстраката;
- испитивање утицаја различитих концентрација биљних екстраката на адхеизију одабраних сојева квасаца.

Радне хипотезе су јасно дефинисани и односе се на:

- хидрофобност квасаца (*Candida* spp, *Pichia* spp.) одређује способност адхеизије на абиотичке површине;
- степен храпавости контактне површине (нерђајућег челика и дрвета) утиче на адхеизију квасаца;
- промена температуре и медијума утиче на адхеизију одабраних квасаца;
- апликација биљних екстраката утиче на адхеизију одабраних квасаца на површини од нерђајућег челика.

У делу **Материјал и методе** дат је приказ и порекло коришћених сојева квасаца као и детаљан опис коришћеног материјала. Свака од примењених метода је детаљно описана и нема нејасноћа. Методе истраживања су адекватно одабране, верификоване у савременој литератури и пружају могућност добијања поузданих и репродуктивних резултата.

Резултати и дискусија су подељени у четири целине у складу са постављеним циљевима истраживања. Први део овог поглавља се односи на утврђивању корелације између хидрофобности површине ћелије сојева квасаца *Candida* и *Pichia* и адхеизије на полистирен површину. У другом делу овог поглавља дат је приказ резултата испитивања утицаја храпавости површине од нерђајућег челика и дрвета на адхеизију сојева квасаца *Candida* и *Pichia*, док је у трећем делу приказан утицај температуре и медијума за раст на адхеизију одабраних сојева квасаца. У четвртном делу овог поглавља врло детаљно су приказани резултати антимикуробне активности и утицаја биљних екстраката на иницијалну адхеизију и формирану биофилм одабраних квасаца. Резултати су приказани на адекватан начин како у научном тако и у техничком смислу. Добијени резултати су детаљно анализирани и поређени са резултатима других студија које се баве истом или сличном проблематиком и јасно прате постављене циљеве истраживања. Дискусија приказана уз резултате је обимна, свеобухватна и указује на завидно познавање проблематике на коју се дисертација односи.

Закључци су јасни и адекватно изведени из добијених резултата и њихове дискусије, те се могу сматрати поузданим. Након прецизно дефинисаних закључака, кандидат је јасно образложио значај изведених испитивања, као и даље истраживачке могућности које су овим истраживањем отворене.

У последњем делу **Литература**, наведена су 175 литературна навода. Литература је цитирана на уобичајен и правилан начин, а избор референци је актуелан и примерен тематици која је проучавана.

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

Рад у међународном часопису изузетних вредности (M21a)

- **Tomičić, R.**, Raspor, P. (2017): Influence of growth conditions on adhesion of yeast *Candida* spp. and *Pichia* spp. to stainless steel surfaces. *Food Microbiology*, 65, 179-184. ISSN 0740-0020, doi: 10.1016/j.fm.2017.02.008

Рад у истакнутом међународном часопису (M22)

- **Tomičić, R.**, Tomičić, Z., Raspor, P. (2017): Adhesion of *Candida* spp. and *Pichia* spp. to Wooden Surfaces. *Food Technology and Biotechnology*, 55(1), 138-142. ISSN 1330-9862, doi: 10.17113/ftb.55.01.17.4514

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу приказаних резултата испитивања кандидат је извео следеће закључке:

- Сви тестирани сојеви квасаца *Candida* и *Pichia* су били у стању да се вежу на полистирен, површине од нерђајућег челика и дрвета, али у различитој мери. Сој врсте *C. albicans* је имао већу способност адхезије на полистирен и нерђајући челик у односу на сојеве врста *C. glabrata*, *C. parapsilosis* и *C. krusei*. У случају код рода *Pichia*, испитивани сој врсте *P. pijperi* је показао већу способност адхезије на нерђајући челик у односу на сојеве врсте *P. membranifaciens*, што није случај код адхезије на полистирен. На основу добијених резултата показано је да су сојеви врста *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *P. pijperi* и *P. membranifaciens* били изразито до умерено хидрофобни, док је сој врсте *C. albicans* био хидрофилан. Дакле, није утврђена корелација између хидрофобности површине ћелије (Cell surface hydrophobicity, CSH) квасаца *Candida* и *Pichia* и адхезије на полистирен. Интересантно је да је најадхезивнији квасац *C. albicans* имао најнижу вредност CSH, што указује да CSH није првенствено одговоран за потенцијал адхезије.
- На адхезију сојева квасаца *Candida* и *Pichia* значајно је утицала храпавост површине нерђајућег челика, док храпавост дрвених површина није значајно утицала.
- Фактори животне средине, као што су температура и медијум за раст, значајно су утицали на адхезију квасаца. Сојеви врста *Candida albicans* су се у највећој мери везивали на температури 37°C, док је сој врсте *C. albicans* показао много већу склоност за адхезију на 43°C. Примећено је да је број везаних ћелија квасаца *C. albicans* и *C. glabrata* на површинама од нерђајућег челика била знатно већа у Malt Extract broth (MEB) медијуму, док је за квасце *C. parapsilosis* и *C. krusei* била у Yeast Peptone Dextrose (YPD) медијуму. У случају код рода *Pichia*, сојеви врста *P. pijperi* и *P. membranifaciens* су се у већој мери адхерирани у YPD медијуму него у MEB медијуму, и показали способност адхезије на температурама између 7°C и 32°C.
- На основу добијених резултата истраживања антимикуробне активности биљних екстраката коришћењем микродилуционе методе, екстракти *Humulus lupulus*, *Alpinia katsumadai* и *Evodia rutaecarpa* су показали антимикуробну активност према квасцима *C. albicans*, *C. glabrata* и *P. membranifaciens*. Испитивани биљни екстракти су такође показали инхибиторни ефекат на иницијалну адхезију и формирани 24h биофилм *C. albicans*. Поред тога, екстракт *A. katsumadai* је био ефикасан у иницијалној фази формирања биофилма *C. glabrata* при концентрацијама 1/2 × MIC и 1 × MIC, док је инхибицију претходно формираног 24h биофилма било теже постићи. Важно је напоменути да су биофилмови *C. glabrata* показали већу отпорност на биљне екстракте у односу на *C. albicans*. С друге стране, екстракти *A. katsumadai* и *E. rutaecarpa* су промовисали раст и развој формираног биофилма *P. membranifaciens*.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

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

Приказани резултати дају јасне одговоре на питања која су садржана у циљевима рада. Резултати се тумаче детаљно и јасно и пореде се са резултатима других истраживања. Закључци су адекватни, научно оправдани и логично произилазе из добијених резултата рада. На основу наведеног, Комисија даје позитивну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE 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

Докторска дисертација је написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Докторска дисертација садржи све битне елементе.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Истраживања спроведена у овој дисертацији значајно доприносе надоградњи постојећих сазнања у оквиру науке о адхезији и формирању биофилма квасаца. Пре свега, проширена су сазнања о способности адхезије квасаца из родова *Candida* и *Pichia* на абиотичке површине, као што су полистирен, површине од нерђајућег челика и дрвета. Такође, добијени резултати су допринели бољем разумевању утицаја температуре, медијума за раст и храпавости контактних површина на адхезију одабраних квасаца. Имајући у виду да познавање и разумевање адхезивне способности квасаца из родова *Candida* и *Pichia*, који садрже патогене и технолошки непогодне врсте које могу узроковати кварење хране, има велики значај са аспекта превенције стварања биофилма, као и његове елиминације.

Стога, познавање адхезивног понашања квасаца је од великог значаја за прехранбену индустрију и у клиничким установама у циљу дефинисања најефикаснијих стратегија чишћења и дезинфекције. Резултати представљени у оквиру истраживања антимикробног ефекта указују на примену биљних екстраката као потенцијалних антимикробних средстава према квасцима *C. albicans*, *C. glabrata* и *P. membranifaciens*.

Стечена сазнања у оквиру ових истраживања имају могућност имплементације у развју нових стратегија у циљу превенције настанка и елиминације биофилмова код врста из родова *Candida* и *Pichia*.

Приказани резултати представљају научну основу за практични развој и имплементацију од стране индустрије, превентивне стратегије за осигурање безбедности хране. Увидом у докторску дисертацију кандидата Ружице Томичић, Комисија је закључила да дисертација садржи све елементе оригиналног научног рада.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

Недостаци докторске дисертације нису уочени.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

Полазећи од позитивне оцене докторске дисертације кандидата **Ружице Томичић**, под називом „**Утицај фактора средине на адхезију квасаца на абиотичке површине**“, Комисија предлаже да се прихвати ИЗВЕШТАЈ о оцени докторске дисертације, а кандидату одобри одбрана дисертације.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ:

Проф. др Јована Граховац, ванредни професор
Председник Комисије

Проф. др Синиша Додић, редовни професор
Ментор - Члан Комисије

Проф. др Петер Распор, редовни професор
Ментор - Члан Комисије

Проф. др Драгиша Савић, редовни професор
Члан Комисије

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.