

TEHNOLOŠKO-METALURŠKI
FAKULTET

35/163
(Broj zahteva)

10.06.2013.
(Datum)

UNIVERZITET U BEOGRADU

Veće naučnih oblasti tehničkih nauka
(Naziv veća naučne oblasti i kome se
zahtev upućuje)

Z A H T E V
za davanje saglasnosti na predlog teme doktorske disertacije

Molimo da, shodno članu 46. st. 5. tačl. 3. Statuta Univerziteta u Beogradu („Glasnik Univerziteta“, broj 131/06), date saglasnost na predlog teme doktorske disertacije:

**„UTICAJ PULSIRAJUĆIH ELEKTRIČNIH POLJA NA RAST I AKTIVNOST AUTOHTONOG
SOJA *Lactobacillus plantarum* 564“**
(pun naziv predložene teme doktorske disertacije)

NAUČNA OBLAST: HEMIJA I HEMIJSKA TEHNOLOGIJA

PODACI O KANDIDATU:

1. Ime, ime jednog od roditelja i prezime kandidata:

Mr SANJA (Vojislav) SERATLIĆ

2. Naziv i sedište fakulteta na kome je stekao visoko obrazovanje: **Univerzitet u Beogradu-
Poljoprivredni fakultet u Zemunu**

3. Godina diplomiranja: 1998.

4. Naziv magistarske teze kandidata: „Promene azotnih materija u toku zrenja sireva sa plavo-zelenim plesnima u tipu gorgonzole“

5. Naziv fakulteta na kome je magistarska teza odbranjena: **Univerzitet u Beogradu-Poljoprivredni
fakultet u Zemunu**

6. Godina odbrane magistarske teze: 2007.

Obaveštavamo Vas da je **Nastavno-naučno veće,**

(naziv nadležnog tela Fakulteta)

na sednici održanoj **30.05.2013. godine** razmotrilo predloženu temu i zaključilo da je tema podobna za izradu doktorske disertacije.

DEKAN FAKULTETA

Prof. dr Đorđe Janačković

Prilog: 1. Predlog teme doktorske disertacije sa obrazloženjem.

2. Akt nadležnog tela fakulteta o podobnosti teme za izradu doktorske disertacije.

3. Podaci o mentoru

Na osnovu čl. 128. Zakona o visokom obrazovanju i čl. 129. Statuta TMF-a, na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta od 30.05.2013. godine, doneta je

O D L U K A

*o prihvatanju Izveštaja Komisije za ocenu naučne zasnovanosti
teme i odobrenju izrade doktorske disertacije*

Prihvata se Izveštaj Komisije za ocenu naučne zasnovanosti predložene teme i odobrava izrada *doktorske disertacije* **mr SANJE SERATLIĆ, dipl. inž.**, pod nazivom: „**UTICAJ PULSIRAJUĆIH ELEKTRIČNIH POLJA NA RAST I AKTIVNOST AUTOHTONOG SOJA *Lactobacillus plantarum* 564**“, uz uslov da Veće naučnih oblasti Univerziteta u Beogradu da saglasnost na predlog teme.

Za mentora se određuje dr Branko Bugarski, redovni profesor TMF.

Odluku dostaviti: Veću naučnih oblasti na saglasnost, kandidatu, mentoru, Službi za nastavno studentske poslove i arhivi Fakulteta.

D E K A N

Prof. dr Đorđe Janačković

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

За кандидата **Сања Сератлић**

Име и презиме ментора: Бранко Бугарски

Звање: редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. [Seratic Sanja V](#) [Bugarski Branko M](#) [Nedovic Viktor A](#) [Radulovic Zorica T](#) [Wadso Lars](#) [Dejmek Petr](#) [Galindo Federico Gomez](#), Behavior of the surviving population of *Lactobacillus plantarum* 564 upon the application of pulsed electric fields , INNOVATIVE FOOD SCIENCE & EMERGING TECHNOLOGIES, (2013), vol. 17 br. , str. 93-98
2. Manojlovic V., Djonlagic J., Obradovic B., Nedovic V., **Bugarski B.** Immobilization of cells by electrostatic droplet generation: a model system for potential application in medicine. *International Journal of Nanomedicine* 1(2):163-171, 2006
3. Manojlović V, Rajić N, Djonlagic J, Obradović B, Nedović V, **Bugarski B.** Application of electrostatic extrusion - flavour encapsulation and controlled release. *Sensors* 8 (3):1488-1496, 2008.
4. Manojlovic V., Djonlagic J., Obradovic B., Nedovic V., **Bugarski B.** Investigations of cell immobilization in alginate: rheological and electrostatic extrusion studies. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 81:505-510, 2006.
5. [Kostic Ivana T](#) [Isailovic Bojana D](#) [Djordjevic Verica B](#) [Levic Steva](#) [Nedovic Viktor A](#) [Bugarski Branko M](#), Electrostatic Extrusion as a Dispersion Technique for Encapsulation of Cells and Bioactive Compounds , HEMIJSKA INDUSTRIJA, (2012), vol. 66 br. 4, str. 503-51
6. [Pajic-Lijakovic Ivana S](#) [Plavsic Milenko B](#) [Nedovic Viktor A](#) [Bugarski Branko M](#), Investigation of Ca-alginate hydrogel rheological behaviour in conjunction with immobilized yeast cell growth dynamics , JOURNAL OF MICROENCAPSULATION, (2007), vol. 24 br. 5 , str. 420 -429
7. [Pajic-Lijakovic Ivana S](#) [Plavsic Milenko B](#) [Bugarski Branko M](#) [Nedovic Viktor A](#), Ca-alginate hydrogel mechanical transformations - The influence on yeast cell growth dynamics , JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY, (2007), vol. 129 br. 3, str. 446-452

8. [Nedovic Viktor A](#) [Manojlovic Verica](#) [Bugarski Branko M](#) [Willaert Ronnie](#), State of the Art in Immobilized/Encapsulated Cell Technology in Fermentation Processes (Proceedings Paper), FOOD ENGINEERING INTERFACES, (2011), str. 119-146

Заокружити одговарајућу опцију (А, Б, В или Г):

А) У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији техникотехнолошких, природно-математичких и медицинских наука ментор треба да има најмање три рада са SCI, SSCI, AHCI или SCIE листе, као и Math-Net.Ru листе.

Б) У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији друштвено-хуманистичких наука ментор треба да има најмање три рада са релевантне листе научних часописа (Релевантна листа научних часописа обухвата SCI, SSCI, AHCI и SCIE листе, као и ERIH листу, листу часописа које је Министарство за науку класификовало као M24 и додатну листу часописа коју ће, на предлог универзитета, донети Национални савет за високо образовање. Посебно се вреднују и монографије које Министарство науке класификује као M11, M12, M13, M14, M41 и M51.)

В) У случају израде докторске дисертације према ранијим прописима за кандидате који су стекли академски назив магистра наука ментор треба да има пет радова (референци) које га, по оцени Већа научних области, квалификују за ментора односне дисертације.

Г) У случају да у ужој научној области нема квалификованих наставника, приложити одлуку Већа докторских студија о именовању редовног професора за ментора.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Датум: 10.06.2013.

М.П.

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta održanoj 25.04.2013. godine imenovani smo za članove Komisije za ocenu naučne zasnovanosti teme doktorske disertacije Mr Sanje V. Seratlić, dipl. inž. pod nazivom:

**Ispitivanje uticaja pulsirajućih električnih polja na rast, sposobnost acidifikacije
i enzimsku aktivnost bakterija mlečne kiseline**

Komisija smatra da je naslov teme potrebno izmeniti i predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta izmenjeni naslov teme:

**Uticaj pulsirajućih električnih polja na rast i aktivnost autohtonog soja
Lactobacillus plantarum 564**

O predloženoj temi i njenoj naučnoj zasnovanosti podnosimo sledeći

I Z V E Š T A J

1. PODACI O KANDIDATU

1.1 Biografski podaci

Mr *Sanja V. Seratlić* rođena je 4.2.1974. u Beogradu. Osnovne studije iz prehrambene tehnologije završila je na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu 1998. godine sa prosečnom ocenom 8.53 i ocenom 10 na diplomskom radu, čime je stekla zvanje diplomiranog inženjera prehrambene tehnologije animalnih proizvoda. Na istom fakultetu je odbranila magistarski rad 2007. godine iz oblasti prehrambeno-tehnoloških nauka i time stekla zvanje magistra biotehničkih nauka.

1.2 Stečeno naučnoistraživačko iskustvo

Mr *Sanja Seratlić* je 27.12.2007. odbranila magistarsku tezu pod nazivom „Promene azotnih materija u toku zrenja sireva sa plavo-zelenim plesnima u tipu gorgonzole“ na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu i time stekla zvanje magistra biotehničkih nauka.

Kandidat je u periodu 1999-2000 bila angažovana kao stručni saradnik na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, a na istom fakultetu je u periodu 2003-2008. god. radila kao asistent, gde je izvodila vežbe studentima treće godine Odseka za prehrambenu tehnologiju na predmetima „Hemija i fizika mleka“ i „Obrada mleka“, kao i studentima treće godine Odseka za agroekonomiju na predmetu „Prerada mesa i mleka“. Kao istraživač je učestvovala u realizaciji četiri projekta finansirana od strane Ministarstva za

nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije i to: „Ispitivanje uticaja visokih temperatura na proteine mleka i njihove funkcionalne osobine (perod 1999-2000); „Program novih tehnologija u prehrambenoj industriji; Visoko proteinski sir: nova tehnologija (2001-2005); „Optimizacija i standardizacija autohtonih mlečnih proizvoda sa zaštitom oznake porekla (2005-2008) i „Primena visokih temperatura u proizvodnji tvrdih sireva sa ciljem većeg iskorišćenja proteina mleka u odnosu na tradicionalan način izrade, sa dodatkom lekovitog i aromatičnog bilja (2008-2010).

Kao saradnik za pogonska i laboratorijska istraživanja, Mr **Sanja Seratlić** je takođe učestvovala u izradi tri Elaborata o zaštiti imena porekla proizvoda „Zlatarski sir“, „Svrljiški sir“ i „Užički kajmak“. U periodu od septembra do oktobra 2009. godine obavila je stručni boravak na Kornel Univerzitetu u Itaki, SAD, pod programom "The Norman Borlaug International Agricultural Science and Technology Fellows Program", a u periodu od septembra 2010. do jula 2011. bila je angažovana kao istraživač na Univerzitetu u Lundu, Švedska u okviru programa "Erasmus Mundus External Cooperation Window" pod pokroviteljstvom Evropske Komisije. Od januara 2012. godine radi kao istraživač u istraživačkom centru „Teagasc Food Research Centre, Moorepark“ u Republici Irskoj.

Objavljeni naučni radovi i saopštenja

Mr **Sanja V. Seratlić** je do sada, samostalno i u saradnji sa drugim autorima, objavila i saopštila ukupno 30 naučnih radova.

Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu (M₂₁)

1. **Seratlić S.**, Bugarski, B., Nedović, V., Radulović, Z., Wadsö, L., Dejmek, P., Gómez Galindo, F.: *Behaviour of the surviving population of Lactobacillus plantarum 564 upon the application of pulsed electric fields*. Innovative Food Science and Emerging Technologies 17, 2013, 93-98.

Rad u međunarodnom časopisu (M₂₃)

2. **Seratlić S.**, Miloradović Z., Radulović Z., Maćej O.: *The effect of two types of mould inoculants on the microbiological composition, physicochemical properties and protein hydrolysis in two Gorgonzola-type cheese varieties during ripening*, - Int. J. Dairy Tech. 64 (3), 2011, 408-416.

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini (M₃₃)

3. **Seratlić, S.**, Maćej, O., Jovanović, S., Barać, M., Marinković, S.: *Characteristics of Gorgonzola type cheeses produced in Serbia*, - 5th International Congress on Food Technology "Consumer Protection through Food Process Improvement & Innovation in the Real World", Proceedings, Vol. 3, Thessaloniki, Greece, 2007, 589-595.
4. **Seratlić, S.**, Maćej, O., Jovanović, S., Marinković, S.: *Chemical and sensory characteristics of Gorgonzola-type cheeses produced in Serbia*, - 14th International Congress Euro Food Chem XIV: Food quality, an issue of molecule based science, Paris, France, Proceedings, Vol. 1, 2007, 230-233.

Saopštenje sa medunarodnog skupa štampano u izvodu (M₃₄)

5. **Seratić, S.**, Maćej, O., Jovanović, S., Barać, M.: *The influence of two different types of Penicillium roqueforti moulds on the protein changes in Gorgonzola type blue-veined cheeses, during ripening*, - 2nd International Congress on Bioprocesses in Food Industries, Proceedings, University of Patras, Rio - Patras, Greece, 2006, 123-124.
6. **Seratić, S.**, Maćej, O., Jovanović, S., Barać, M.: *The compositional and proteolytical changes in Gorgonzola type cheeses, during ripening*, - Food Processing - Innovation - Nutrition - Healthy Consumers, Radenci, Slovenija, *Book of Abstracts*, 2007, 79.
7. **Seratić, S.**, Maćej, O., Jovanović, S., Barać, M., Jovanović, Z.: *Changes of Nitrogen Matters during the Ripening of Gorgonzola Type Cheese produced in Serbia*, - 5th IDF Symposium on cheese ripening, Book of Abstracts, Bern, Switzerland, 2008, 116-117.

Rad u vodećem časopisu nacionalnog značaja (M₅₁)

8. Maćej, O., Jovanović, S., **Seratić, S.**, Barać, M.: *Proizvodnja svežih sireva na bazi koagregata proteina mleka*, - Biotehnologija u stočarstvu, Vol. 20 (1-2), 2004, 119-129.
9. Maćej, O., Jovanović, S., Barać, M., **Seratić, S.**, Vučić, T.: *Chemical and sensory characteristics of Svrlijig white cheese*, - Biotechnology in Animal Husbandry, Belgrade, Serbia and Montenegro, Book 1, 21 (5-6), 2005, 369-373.
10. Maćej O., Jovanović, S., Niketić, G., Vučić, T., **Seratić, S.**: *Senzorne karakteristike Zlatarskog sira*, - XVII Inovacije u stočarstvu, Biotehnologija u stočarstvu, Vol. 22, 2006, 317-327.
11. **Seratić, S.**, Maćej, O., Jovanović, S., Marinković, S.: *Kvalitet mleka u proizvodnji sireva sa plavo-zelenim plesnima*, - Savremena poljoprivreda, 56 (5), 2007, 81-85.
12. **Seratić, S.**, Maćej, O., Jovanović, S., Jovanović, Z.: *Mikroflora sireva sa plavozelenim plesnima*, - Biotehnologija u stočarstvu, Vol. 24, 2008, 237-258.
13. Vučić, T., Jovanović, S., Maćej, O., Barać, M., **Seratić, S.**: *Tehnologija i kvalitet užičkog kajmaka*, - Biotehnologija u stočarstvu, Vol. 24, 2008, 267-277.

Rad u časopisu nacionalnog značaja (M₅₂)

14. Maćej, O., Jovanović, S., **Seratić, S.**: *Uticaj sadržaja suve materije i količine dodatog indikatora fenolftaleina na titracionu kiselost i pH mleka*, - Preh. ind. Mleko i mlečni proizvodi, Vol. 14 (1-2), 2003, 121-126.
15. Jovanović, S., Maćej, O., Marinković, S., **Seratić, S.**, Vučić, T.: *Karakteristike sireva sa plavo-zelenim plesnima u tipu Gorgonzole*, - Mlekarstvo 27, 2004, 927-930.
16. Maćej, O., Jovanović, S., Dozet, N., **Seratić, S.**, Vučić, T., Savić, Ž.: *Tehnologija autohtone izrade Sjeniškog sira na širem području Sjeničko-peštarske visoravni*, - Mlekarstvo, Vol. 3 (27), 2004, 931-933.
17. Maćej, O., **Seratić, S.**, Jovanović, S., Vučić, T.: *Uticaj sadržaja SMBM i proteinskog preparata „ALACO 6202“ na indukovani sinerezis kiselog kazeinskog gela*, - Preh. ind. Mleko i mlečni proizvodi, Vol. 15 (1-2), 2004, 80-85.

18. **Seratlić, S.**, Maćej, O., Jovanović, S., Barać, M.: *Distribucija sastojaka mleka pri proizvodnji sireva sa plavo-zelenim plesnima u tipu Gorgonzole*, - Preh. ind. - Mleko i mlečni proizvodi, Vol. 17 (3-4), 2006, 87-91.
19. **Seratlić, S.**, Maćej, O., Jovanović, S.: *Randman različitih varijeteta sireva u tipu Gorgonzole*, - Preh. ind. - Mleko i mlečni proizvodi, Vol. 18 (1-2), 2007, 81-85.
20. Vučić, T., Maćej, O., Jovanović, S., **Seratlić, S.**, Niketić, G.: *Zlatarski sir – autohtona tehnologija i senzorne karakteristike*, - Preh. ind. - Mleko i mlečni proizvodi, Vol. 19 (1-2), 2008, 97-101.
21. Maćej, O., **Seratlić, S.**, Jovanović, S., Radin, D., Vučić, T., Miloradović, Z.: *Karakteristike sireva sa dodatkom lekovitog i aromatičnog bilja*, - Preh. ind.- Mleko i mlečni proizvodi, 20 (1-2), 2009, 123-130.

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u celini (M₆₃)

22. **Seratlić, S.**: *Vitamini u svežem i termički tretiranom mleku i mlečnim proizvodima*, - Zbornik radova Simpozijuma "Proizvodnja i prerada mleka", Poljoprivredni fakultet, Beograd, 2000, 35-47.
23. **Seratlić S.**, Jovanović, S., Maćej, O., Vučić T.: *Mogućnost iskorišćenja proteina i laktoze iz surutke*, - Zbornik radova II Simpozijuma "Mleko i proizvodi od mleka", Tara, Srbija i Crna Gora, 2005, 105-110.
24. Jovanović, S., Maćej, O., Vučić T., **Seratlić S.**: *Karakteristike autohtone proizvodnje zlatarskog sira*, - Zbornik radova II Simpozijuma "Mleko i proizvodi od mleka", Tara, Srbija i Crna Gora, 2005, 84-86.
25. Jovanović, S., Maćej, O., Vučić T., **Seratlić S.**: *Senzorna ocena polutvrdog sira priozvedenog na bazi koagregata proteina mleka*, - Zbornik radova II Simpozijuma "Mleko i proizvodi od mleka", Tara, Srbija i Crna Gora, 2005, 93-97.
26. **Seratlić, S.**, Maćej, O., Jovanović, S., Marinković, S.: *Tehnološki proces proizvodnje sireva sa plavo-zelenim plesnima*, - Zbornik radova III Simpozijuma "Mleko i proizvodi od mleka", Tara, Srbija i Crna Gora, 2006, 71-73.
27. Vučić, T., Jovanović, S., Maćej, O., Barać, M., **Seratlić, S.**: *Kvalitet užičkog kajmaka*. - Zbornik radova III Simpozijuma "Mleko i proizvodi od mleka", Tara, Srbija i Crna Gora, 81-83. Ur. Maćej, O., Jovanović, S. Tara, 2006, 81-83.
28. Maćej O., Jovanović, S., **Seratlić, S.**, Vučić, T.: *Tehnološki postupak proizvodnje autohtonog Zlatarskog sira*, - Zbornik radova IV Simpozijuma "Mleko i proizvodi od mleka", Kladovo, 83-87. Ur. Maćej, O., Jovanović, S. Kladovo, 2007, 83-87.
29. Maćej O., Jovanović, S., Vučić, T., **Seratlić, S.**, Jovanović, Z.: *Tehnološki proces proizvodnje kiselog kazeina*, - Zbornik radova IV Simpozijuma "Mleko i proizvodi od mleka", Kladovo, 2007, 107-111.

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu (M₆₄)

30. **Seratlić, S.**, Maćej, O., Jovanović, S., Jovanović, Z.: *The role of Penicillium roqueforti moulds in the ripening of blue-veined cheeses, produced in Serbia*, - Book of Abstracts, the 38th Croatian Dairy Experts Symposium with international participation., Lovran, Hrvatska, org. Hrvatska mljekarska udruga, 2008, 128-129.

Magistarski rad (M₇₂)

Seratić, S.: *Promene azotnih materija u toku zrenja sireva sa plavo-zelenim plesnima u tipu gorgonzole*, - Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Zemun-Beograd, 2007.

Novi tehnološki postupak (M₈₃)

Maćej, O., Jovanović, S., **Seratić, S.**, Vučić, T., Miloradović, Z., Ralević, N., Mekić, C., Trifunović, G., Barać, M., Radulović, Z., Dajić Stevanović, Z., Stanković, I., Kasalica, A., Miočinović, D.: *Novi proizvod/Novi tehnološki postupak proizvodnje visokoproteinskih tvrdih sireva sa dodatkom lekovitog i aromatičnog bilja*, - Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Zemun-Beograd, 2010.

1.3 Ocena podobnosti kandidata za rad na predloženoj temi

Na osnovu biografskih podataka i dosadašnjeg iskustva u nastavi i naučno-istraživačkom radu, kao i objavljenih naučnih radova, Komisija ocenjuje da Mr **Sanja V. Seratić** ispunjava sve neophodne uslove za rad na predloženoj temi doktorske disertacije.

2. PREDMET I CILJ ISTRAŽIVANJA

Predmet istraživanja doktorske disertacije je ispitivanje uticaja pulsirajućih električnih polja na rast i aktivnost ćelija autohtonog soja bakterija mlečne kiseline *Lactobacillus plantarum* 564, izolovanih iz sjeničkog belog sira u salamuri. Pulsirajuća električna polja (PEP) predstavljaju intenzivne električne pulseve, koji se mogu primeniti u cilju inaktivacije mikroorganizama u tečnim prehrambenim proizvodima, koji su tretirani u kontinualnom protoku (1-5). Dosadašnja saznanja ukazuju da procesuiranjem hrane pulsirajućim električnim poljima dolazi do netermičke elektroplazmolize ćelijskog materijala, što rezultira povećanoj permeabilnosti ćelijske membrane (6). Međutim, u zavisnosti od primenjenog PEP tretmana, taj proces može biti reverzibilan i ireverzibilan (7). Step en mikrobiološke inaktivacije zavisi od jačine primenjenog tretmana, temperature i jonske snage medijuma (8), kao i vrste tretiranih mikroorganizama (9). Ukoliko su ćelije bakterija izložene pulsevima niske energije, tada nakon prestanka dejstva PEP tretmana dolazi do oporavka ćelijske membrane (10). Takođe je ustanovljeno da pulsevi niske energije mogu dovesti do poboljšanja rasta elektroporiranih ćelija laktobacila tokom inkubacije u povoljnim uslovima nakon primene tretmana (11). S tim u vezi, deo ovih istraživanja fokusiraće se na ispitivanje procesnih parametara PEP tretmana koji će potencijalno dovesti do reverzibilne elektroporacije membrane ćelija laktobacila, koje bi nakon prestanka tretmana nastavile sa rastom i razmnožavanjem. Stoga će se u prvom delu istraživanja primenjivati PEP tretmani niskih amplituda u opsegu od 4.5 do 13.6 kV/cm, što odgovara energetsom inputu od 1.3 – 12.2 J/cm³. Osnovni cilj ovog dela istraživanja je da se ispita efekat različitih PEP tretmana niskog energetskeg inputa na rast, acidifikacionu sposobnost i metaboličku aktivnost tretiranih ćelija laktobacila.

S druge strane, kada su ćelije bakterija izložene visokim PEP tretmanima, veći deo populacije biva inaktivisan. Oštećena ćelijska membrana omogućava isticanje intracelularnog sadržaja, što može da dovede do gubitka metaboličke aktivnosti ćelije, a ćelije koje su izgubile sposobnost rasta i deobe u hranjivoj podlozi, smatraju se inaktivisanim (12). Ipak,

nakon prestanka dejstva tretmana, mali deo preživele populacije može da nastavi da raste i formira nove kolonije (13). Stoga će se deo istraživanja bazirati na ispitivanju efekta visokih PEP tretmana na stepen preživljavanja tretiranih ćelija soja *Lb. plantarum* 564, pri čemu će se primeniti pulsevi energije od 34.6 – 658.1 J/cm³. Ponašanje preživele populacije nakon primene PEP tretmana različitog intenziteta električnog polja biće praćeno putem izotermalne kalorimetrije, koja se kao metoda koristi za merenje odavanja toplote prilikom rasta mikroorganizama u toku fermentacije određenih prehrambenih proizvoda, sa ciljem praćenja efekta određenih tretmana (npr. termičkog tretmana) i antimikrobnih agenasa (14,15). Stepenn odavanja toplote meren na kalorimetru predstavlja kriterijum stepena metaboličkih funkcija i direktno zavisi od metaboličkog odgovora ćelije (16).

Postoji veliki stepen variranja u odgovoru bakterija na stres, čak i kada je u pitanju genetički identična populacija koja raste u homogenoj sredini (17). Postojanje heterogenosti bakterija u odgovoru na stres od velikog je značaja u primeni tretmana čiji je cilj inaktivacija mikroorganizama i predstavlja značajan kriterijum određivanja najoptimalnijih uslova svakog tretmana (18). Stoga, identifikacija subpopulacije kao što su „perzisteri”, koji ne poseduju genetski stečenu otpornost na određeni tretman (18,19) i poznavanje njihove senzitivnosti na stres su esencijalni parametri za procenu efekta određenog PEP tretmana. S tim u vezi, posebna pažnja će se posvetiti ispitivanju ponašanja preživele populacije, koja će biti tretirana istim PEP tretmanima, sa ciljem ispitivanja stepena otpornosti preživele subpopulacije na ponovljene PEP tretmane.

S obzirom na to da je ćelijska membrana najpodložnija elektroporaciji kada se ćelije nalaze u fazi deobe (9,20), primena svih PEP tretmana vršiće se u eksponencijalnoj fazi rasta ćelija *Lb. plantarum* 564.

Imajući u vidu da savremena istraživanja proširuju kriterijume za selekciju bakterija kao starter kultura u prehrambenoj industriji, gde se pored tehnoloških i biohemijskih osobina sve više ispituje i probiotska sposobnost bakterija mlečne kiseline, sledeći stepen istraživanja će se fokusirati na ispitivanje uticaja pulsirajućih električnih polja na potencijalna probiotska svojstva tretiranih ćelija laktobacila. Naime, sve veća potreba tržišta za zdravom hranom uvodi primenu prehrambenih proizvoda koji sadrže žive probiotske mikroorganizme, koji ispoljavaju niz zdravstvenih benefita, kao što je jačanje imunog sistema, smanjenje sadržaja serumskog holesterola u krvi, sprečavanje raznih oblika dijareje, antimikrobna aktivnost, uspostavljanje balansa intestinalne mikroflore, itd. (21). Vrste intestinalnih bakterija koje se najčešće koriste u prehrambenoj industriji su laktobacili, a ustanovljeno je da pojedini sojevi *Lb. plantarum* takođe poseduju probiotska svojstva. Zbog toga će se u ovim istraživanjima vršiti ispitivanje potencijalnih probiotskih kriterijuma soja *Lb. plantarum* 564, a ispitivaće se i ćelije izložene pulsevima niskog i visokog energetskog imputa.

Probiotici se uglavnom koriste kao dopunske kulture, a da bi ispoljili benefita svojstva, moraju da poseduju sposobnost prolaska kroz gastrointestinalni trakt, što predstavlja sposobnost preživljavanja uslova u prisustvu želudačnog soka (koji iznosi oko pH 2.0) i toleranciju na žučne soli (22). S tim u vezi će se ispitivati sposobnost rasta netretiranih i PEP tretiranih ćelija laktobacila u gastrointestinalnim uslovima. Takođe će se vršiti ispitivanje ostalih probiotskih kriterijuma, kao što je antimikrobna aktivnost i rezistentnost na antibiotike (23).

Literatura:

1. Barbosa-Cánovas, G. V., Góngora Nieto, M. M., Pothakamury, U. R., Swanson, B. G.: *Preservation of foods with pulsed electric fields*, - Academic Press, San Diego, CA, 1999.
2. Calderon-Miranda, M.L., Barbosa-Canovas, G.V., Swanson, B.G.: *Transmission electron microscopy of Listeria innocua treated by pulsed electric fields and nisin in skimmed milk*, - Int. J. Food Micro. 51, 1999, 31-38.
3. Heinz, V., Alvarez, I., Angersbach, A., Knorr, D.: *Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields – basic concepts for processing design*, - Trends in Food Science and Technology, 12, 2002, 103-111.
4. Pagan, R., Condón, S., Raso, J.: *Microbial inactivation by pulsed electric fields*, - In: G.V. Barbosa-Canovas, M.S. Tapia, M.P. Cano (Eds.), *Novel Food Processing Technologies* (pp. 45–68), Boca Raton: CRC Press, 2005.
5. Wan, J., Coventry, J., Swiergon, P., Sanguansri, P., Versteeg, C.: *Advances in innovative processing technologies for microbial inactivation and enhancement of food safety – pulsed electric field and low-temperature plasma*, - Trends in Food Science and Technology, 20, 2009, 414-424.
6. Chang, D. C., Chassy, B. M., Saunders, J. A., Sowers, A. E.: *Guide to electroporation and electrofusion*, - Academic Press, San Diego, CA, 1992.
7. Wouters, P. C., Bos, A. P., Ueckert, J.: *Membrane permeabilization in relation to inactivation kinetics of Lactobacillus species due to pulsed electric fields*. Appl. Environ. Microbiol., 67 (7), 2001, 3092-3101.
8. Qin, B. L., Barbosa-Cánovas, G. V., Swanson, B. G., Pedrow, P. D., Olsen, R. G.: *Inactivating Microorganisms Using a Pulsed Electric Field Continuous Treatment System*. IEEE Transactions on Industry Applications, 34, 1998, 43-50.
9. Hülshager, H., Pottel, J., Niemann, E. G.: *Electric field effects on bacteria and yeast cells*. Radiat. Environ. Biophys. 22, 1983, 149-162.
10. Qin, B. L., Barbosa-Cánovas, G. V., Swanson, B. G., Pedrow, P. D., Olsen, R. G.: *A continuous treatment system for inactivating microorganisms with pulsed electric field*, - IEEE Ind. Appl. Soc. Annu. Meet. IEEE, Piscataway, N.J. 1995, 1345-1352.
11. Lye, H.S., Karim, A.A., Rusul, G., Liong, M.T.: *Electroporation enhances the ability of lactobacilli to remove cholesterol*, - J. Dairy Sci., 94, 2011, 4820-4830.
12. Jeyamkondan, S., Jayas, D. S., Holley, R. A.: *Pulsed electric field processing of foods: a review*, - Journal of Food Protection, 62 (9), 1999, 1088-1096.
13. Aronsson, K., Borch, E., Stenlöf, B., Rönner, U.: *Growth of pulsed electric field exposed Escherichia coli in relation to inactivation and environmental factors*. International Journal of Food Microbiology, 93, 2004, 1-10.
14. Selma, M. V., MacNaughtan, W., Mitchell, J., Waites, W.: *Optimisation of production and storage stability of the starter bacteria Streptococcus thermophilus and Lactobacillus plantarum*, - J. Sci. Food Agric., 87, 2007, 765–772.
15. Wadsö, L., Gómez Galindo, F.: *Isothermal calorimetry for biological applications in food science and technology*, - Food Control, 20, 2009, 956-961.
16. Criddle, R.S., Breindenbach, R.W., Hansen, L.D.: *Plant calorimetry: how to quantitatively compare apples and oranges*, - Thermochemica Acta, 193, 1991, 67-90.
17. Booth, I.R.: *Stress and the single cell: Intrapopulation diversity is a mechanism to ensure survival upon exposure to stress*, - International Journal of Food Microbiology, 78, 2002, 19-30.
18. Ingham, C.J., Beerthuyzen, M., Vlieg van Hylckama, J.: *Population heterogeneity of Lactobacillus plantarum WCFS1 microcolonies in response to and recovery from acid stress*, - Applied and Environmental Microbiology, 74, 2008, 7750-7758.
19. Balaban, N.Q., Merrin, J., Chait, R., Kowalik, L., Leibler, S.: *Bacterial persistence as a phenotypic switch*, - Science, 305, 2004, 1622-1625.

20. Gášková, D., Sigler, K., Janderová, B., Plášek, J.: *Effect of high-voltage electric pulses on yeast cells: Factors influencing the killing efficiency*, - Bioelectrochem. Bioenergetics, 39, 1996, 195-202.
21. Sanders, M.E.: *Considerations of use of probiotic bacteria to modulate human health*, - J. Nutri. 130, 2000, 384-390.
22. Gibson, G. R., Otaway, P. W., Robert, A. R.: *Prebiotics: New development in functional foods*. Chandos Publishing (Oxford) Limited, London, UK, 2000.
23. Radulović, Z., Miočinović J., Puđa, P., Barać, M., Miloradović, Z., Paunović, D., Obradović, D.: *The application of autochthonous lactic acid bacteria in white brined production*, - Mljekarstvo, 61(1), 2011, 15-25.

3. POLAZNE HIPOTEZE

Na osnovu pregleda literatura postavljene su sledeće polazne hipoteze:

1. S obzirom na to da izlaganje bioloških ćelija električnom polju određene jačine dovodi do privremenog ili permanentnog povećanja permeabilnosti ćelijske membrane, pošlo se od pretpostavke da će tretmani niskog energetskeg inputa (ispod 13 J/cm^3) potencijalno dovesti do reverzibilne elektroporacije ćelijske membrane tretiranih laktobacila. Ukoliko se primeni takav PEP tretman koji izaziva reverzibilnu peremabilizaciju ćelijske membrane, tada ćelije bakterija bivaju samo stresirane, te nakon tretmana nastavljaju da se razvijaju. Stoga je u ovom radu postavljena hipoteza da će ovakvi tretmani pozitivno uticati na rast i razvoj ispitivanih ćelija *Lb. plantarum* 564.
2. S druge strane, primena PEP tretmana visoke energije uzrokuje ireverzibilne promene na ćelijskoj membrani, što dovodi do liziranja i izumiranja ćelija. Međutim, u svetskoj literaturi nije pronađen podatak da je stepen inaktivacije mikroorganizama pulsirajućim električnim poljima iznosio 100%. To ukazuje na činjenicu da nakon svakog PEP tretmana ostane određeni deo populacije koji preživi primenjeni tretman, čime se ukazuje na prisustvo sub-populacije perzistera, koji pokazuju određenu otpornost na stres izazvan dejstvom električnih pulseva. S tim u vezi je postavljena hipoteza da će nakon dejstva pulseva visokog energetskeg inputa (do 658 J/cm^3) deo sub-populacije ćelija *Lb. plantarum* 564 preživeti i nastaviti da raste i razmnožava se nakon inokulacije u MRS bujonu na 37°C .
3. Ukoliko se dokaže postojanje perzistera u okviru iste populacije ispitivanih laktobacila, postavlja se sledeća hipoteza vezana za stepen otpornosti preživele sub-populacije. Na osnovu literaturnih podataka ustanovljeno je da sa povećanjem jačine električnog polja raste i stepen inaktivacije mikroorganizama. U ovim istraživanjima primenjivaće se tretmani različite jačine električnog polja (22.9-31.6 kV/cm) i različite dužine pulsa (50-500 μs), što bi trebalo da dovede do različitog stepena inaktivacije tretiranih laktobacila. S obzirom na postojanje otpornosti određenog broja ćelija u okviru iste populacije, izvršiće se ponovno tretiranje ćelija preživele sub-populacije primenom istih uslova, pod pretpostavkom da će ćelije koje su preživele najjači PEP tretman pokazati najveću otpornost na ponovljeni tretman.

4. Ukoliko se dokaže da postoji povećana otpornost ćelija na povećane uslove stresa pod dejstvom pulsirajućih električnih polja, postaviće se sledeća hipoteza da ćelije, koje su pokazale veću otpornost na oštrije PEP tretmane poseduju i veći stepen preživljavanja u gastrointestinalnim uslovima, kao i veću rezistentnost na antibiotike. Takođe će biti interesantno ispitati antimikrobnu aktivnost tih ćelija.

4. NAUČNE METODE ISTRAŽIVANJA

U ovoj disertaciji kandidat će pratiti rast netretiranih i PEP tretiranih ćelija laktobacila određivanjem broja kolonija po mililitru (*eng.* Colony Forming Units – cfu/ml), kao i merenjem optičke gustine inokulisanog MRS bujona na spektrofotometru pri talasnoj dužini od 600 nm (OD_{600nm}). Step en oslobađanja toplote tokom razvoja netretiranih i PEP tretiranih bakterija konstantno će biti praćen putem izotermalne kalorimetrije, koja se koristi kao metoda za merenje stepena odavanja toplote koju ćelije bakterija oslobađaju tokom rasta. Takođe će se pratiti i sposobnost acidifikacije tretiranih laktobacila direktnim merenjem inkubiranih MRS bujona pomoću pH-metra.

Ispitivanje ćelija *Lb. plantarum* 564 na potencijalna probiotska svojstva vršiće se pre, kao i nakon primenjenih PEP tretmana i re-tretmana, a ispitivaće se sledeći kriterijumi: senzitivnost na simulirane gastrointestinalne uslove, gde će se ispitivati stepen preživljavanja u simuliranim uslovima u želucu (pri niskim pH 2.0 u prisustvu pepsina) i dvanaestopalačnom crevu (u prisustvu žučnih soli i pankreatina); zatim rezistentnost na antibiotike upotrebom diskova sa 8 različitih antibiotika, kao i antimikrobna aktivnost na patogenim sojevima sledećih mikroorganizama: *Listeria monocytogenes* IM2000, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Escherichia coli* ATCC25922, *Salmonella enteritidis* ATCC31806, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC5999 i *Candida albicans* ATCC10259.

U cilju dobijanja pozitivnog kontrolnog uzorka ćelije *Lb. plantarum* 564 će se takođe tretirati termičkim tretmanom od 80 °C u trajanju od 270 sekundi, a potom će se pratiti rast preživelih ćelija merenjem OD₆₀₀ vrednosti, kao i pH vrednosti u toku inkubacije u trajanju od 24h.

5. OČEKIVANI NAUČNI DOPRINOS

U dosadašnjim istraživanjima u svetu, upotreba PEP tretmana se uglavnom bazirala na inaktivaciji patogenih mikroorganizama u cilju konzervisanja hrane, dok je primena pulsirajućih električnih polja radi stimulacije rasta bakterija mlečne kiseline vrlo retko bila predmet istraživanja i svetska literatura je vrlo ograničena podacima na ovu temu. Ukoliko se dokaže da primenjeni PEP tretmani niskog energetskeg inputa uzrokuju reverzibilnu elektropermeabilizaciju ćelijske membrane i dovode do poboljšanja rasta ćelija, dobijeni rezultati će predstavljati temelj za dalja istraživanja na temu fenomena elektroporacije i primene električnih pulseva u cilju poboljšanja rasta mikrobioloških ćelija.

S druge strane, primena PEP tretmana visokog energetskeg inputa u cilju inaktivacije mikroorganizama, često se smatra netermičkoj tehnici kao alternativni termičkim tretmanima. Međutim, u cilju obezbeđenja zdravstveno bezbedne hrane, potrebno je poznavati mehanizme dejstva inaktivacije mikroorganizama, kao i ponašanje preživele populacije, koja može da se oporavi nakon sub-letalne povrede, kao što je stres indukov an dejstvom PEP tretmana.

Dobijeni rezultati istraživanja će doprineti boljem razumevanju ponašanja ćelija nakon primene jačih PEP tretmana, a dobijeni rezultati mogu poslužiti kao uvod za naredna istraživanja na metaboličkom i proteomičkom nivou.

Ukoliko se dokaže da ispitivane bakterije soja *Lb. plantarum* 564 poseduju probiotska svojstva, a da pojedini tretmani pulsirajućim električnim poljima favorizuju ista, dobijeni rezultati će poslužiti kao osnova za dalje ispitivanje drugih probiotskih bakterija i potencijalnu primenu datih tretmana u industriji.

Na kraju istraživanja očekuje se da će dobijeni rezultati dovesti do boljeg razumevanja efekta PEP tretmana na ćelijskom nivou, kao i primene istih u prehrambenoj industriji. Ukoliko se primenjeni tretmani pokažu kao uspešni u procesnim tehnologijama baziranim na upotrebi bakterija mlečne kiseline, metabolički efekti nastali primenom PEP tretmana mogu biti primenjivani u prehrambenoj industriji, kroz način ubrzanja fermentacije ili procesa zrenja sireva upotrebom tretiranih laktobacila kao dopunskih kultura.

Takođe, dobijeni rezultati će poslužiti kao osnova za dalja istraživanja koja će se bazirati na ispitivanju mogućih mehanizama promene ćelijske membrane tokom rasta, kao i na ispitivanju posledica vezanih za odbrambeni mehanizam ćelije pod usticajem PEP indukovanog stresa.

6. PLAN ISTRAŽIVANJA I STRUKTURA RADA

Plan istraživanja je koncipiran tako što će se nakon opsežnog pregleda literature precizirati uslovi PEP tretmana (napon, širina pulsa, frekvencija pulsa i broj primenjenih pulseva), a takođe će se utvrditi u kom stadijumu rasta će dati PEP tretmani biti primenjeni. Zatim će se izvršiti tretiranje bakterija pulsevima niskog energetskog inputa, a u sledećoj fazi istraživanja primeniće se tretmani visokog energetskog inputa. Nakon izvršenih analiza, suspenzija ćelija tretirana pulsevima visoke energije će biti podvrgnuta ponovnim PEP tretmanima, nakon čega će se ponovo izvršiti neophodne analize. Suspenzija ćelija *Lb. plantarum* 564 će takođe biti podvrgnuta termičkim tretmanima, radi dobijanja pozitivnog kontrolnog uzorka.

Sama izrada doktorske disertacije će imati sledeću strukturu:

- *Uvod*, u kojem će biti prikazan kratak osvrt na područje ispitivanja, definisani glavni ciljevi disertacije i predmet istraživanja;

- *Pregled literature* će obuhvatiti analizu dosadašnjih istraživanja koji se odnose na rast, rezistentnost i probiotska svojstva bakterija mlečne kiseline (BMK) s jedne strane, i primenu PEP tretmana kao tehnike atenuacije BMK, s druge strane;

- *Materijal i metode rada*, u kojem će biti navedene i opisane sve metode koje će se koristiti u eksperimentalnom radu;

- *Rezultati* će dati prikaz rezultata u vidu tabela, grafikona i slika;

- *Diskusija* će detaljno obraditi prikazane rezultate sa osvrtom na pregled literature;

- *Zapažanja i zaključci* – u ovom poglavlju će se sumirati svi dobijeni rezultati, na osnovu kojih će se izneti određena zapažanja i izvesti značajni zaključci;

- *Literatura* – u ovom poglavlju će biti navedene reference citirane u pregledu literature, kao i u poglavlju diskusije.

7. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu iznetih podataka Komisija smatra da je tema doktorske disertacije “**Uticaj pulsirajućih električnih polja na rast i aktivnost autohtonog soja *Lactobacillus plantarum* 564**”, koju je predložila Mr Sanja V. Seratlić naučno zasnovana i predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta da prihvati ovu temu i odobri izradu ove disertacije. Za mentora se predlaže Prof. dr Branko Bugarski, redovni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnoj oblasti Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija, za koju je Tehnološkometalurški fakultet Univerziteta u Beogradu matična ustanova.

U Beogradu, 17.05.2013.

ČLANOVI KOMISIJE

1. Dr Branko Bugarski, redovni profesor
Tehnološko-metalurški fakultet
Univerzitet u Beogradu

2. Dr Zorica Knežević-Jugović, van. prof.
Tehnološko-metalurški fakultet
Univerzitet u Beogradu

3. Dr Maja Vukašinović, docent
Tehnološko-metalurški fakultet
Univerzitet u Beogradu

4. Dr Viktor Nedović, redovni profesor
Poljoprivredni fakultet
Univerzitet u Beogradu

5. Dr Zorica Radulović, van. prof.
Poljoprivredni fakultet
Univerzitet u Beogradu