

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

Predmet: Referat o urađenoj doktorskoj disertaciji kandidata mr Sanje Seratlić,
dipl. inž.

Odlukom o imenovanju Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije br. 35/286 od 26.09.2013. godine, imenovani smo za članove Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata mr Sanje Seratlić, dipl. inž. pod naslovom

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

Nakon pregleda dostavljene Disertacije i drugih pratećih materijala, kao i razgovora sa Kandidatom, Komisija je sačinila sledeći

R E F E R A T

1. UVOD

1.1. Hronologija odobravanja i izrade doktorske disertacije

- 27.09.2010. godine - Kandidat mr Sanja Seratlić, dipl. inž. prijavila je temu za izradu doktorske disertacije pod nazivom **„Ispitivanje uticaja pulsirajućih električnih polja na rast, sposobnost acidifikacije i enzimsku aktivnost bakterija mlečne kiseline”**.

- 18.11.2010. godine - Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta (TMF) doneta je Odluka o imenovanju Komisije za ocenu naučne zasnovanosti teme doktorske disertacije mr Sanje Seratlić, dipl. inž. Ova Odluka je ponovljena 25.04.2013. godine na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

- 30.05.2013. godine - Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta prihvaćen je predlog Komisije za ocenu naučne zasnovanosti teme doktorske disertacije pod nazivom **„Uticaj pulsirajućih električnih polja na rast i aktivnost autohtonog soja *Lactobacillus plantarum* 564”**, a za mentora je imenovan prof. dr Branko Bugarski, red. prof. TMF.

- 08.07.2013. - Veće naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu dalo je saglasnost na predlog teme doktorske disertacije mr Sanje Seratlić, dipl. inž., pod nazivom **„Uticaj pulsirajućih električnih polja na rast i aktivnost autohtonog soja *Lactobacillus plantarum* 564”**.

- 26.9.2013. godine - Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta doneta je Odluka o imenovanju članova Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije mr Sanje Seratlić, pod nazivom „**Uticaj pulsirajućih električnih polja na rast i aktivnost autohtonog soja *Lactobacillus plantarum* 564**”.

1.2. Naučna oblast disertacije

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnoj oblasti Hemije i hemijske tehnologije, za koju je Tehnološko-metalurški fakultet matična ustanova.

1.3. Biografski podaci o kandidatu

Kandidat mr Sanja Seratlić, dipl. inž., rođena je 04.02.1974. godine u Beogradu. Završila je prirodno-matematički smer u Zemunskoj gimnaziji 1993. i iste godine upisala osnovne studije iz prehrambene tehnologije na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, koje je završila 1998. godine sa prosečnom ocenom 8.53 i ocenom 10 na diplomskom radu. Time je stekla zvanje diplomiranog inženjera prehrambene tehnologije animalnih proizvoda. Magistarski rad pod nazivom „Promene azotnih materija u toku zrenja sireva sa plavo-zelenim plesnima u tipu gorgonzole“ odbranila je 2007. godine 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. godine 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; Visokoproteinski 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 septembru i oktobru 2009. 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. radi kao istraživač u istraživačkom centru „Teagasc Food Research Centre, Moorepark“ u Republici Irskoj.

2. OPIS DISERTACIJE

2.1. Sadržaj disertacije

Doktorska disertacija kandidata mr Sanje Seratlić, dipl. inž., napisana je na 150 strana, u okviru kojih se nalazi 14 slika, 16 tabela, 14 grafikona, 20 formula i 290 literaturnih navoda, uključujući dve tabele i dva grafikona u prilogu. Strukturu disertacije sačinjavaju sledeća poglavlja: Uvod, Pregled literature, Materijal i metode rada, Rezultati, Diskusija i Zaključci. Na početku disertacije dat je Rezime na srpskom i engleskom jeziku, dok su nakon zaključaka prikazani navodi literature, nakon čega je dat prilog, a na samom kraju data je i biografija autora.

2.2. Kratak prikaz pojedinačnih poglavlja

Naslov doktorske disertacije je jasno formulisan i ukazuje na sadržaj vršenih ispitivanja, dok je u rezimeu prikazan kratak pregled samog rada, kao i naučni doprinos sprovedenih istraživanja. Uvod jasno prikazuje cilj rada, osvrćući se na pregled relevantnih literaturnih podataka, na osnovu kojih je donet i ukratko opisan plan istraživanja.

U okviru pregleda literature prikazana su 4 poglavlja: Bakterije mlečne kiseline (BMK), Rezistentnost mikroorganizama na indukovani stres, Probiotska svojstva BMK i Pulsirajuća električna polja (PEP) kao tehnika atenuacije BMK. Kandidat je dao detaljan opis rasta i aktivnosti BMK, kao i procesa autolize ćelija, sa posebnim osvrtom na G(+) bakterije, kojima ispitivani laktobacili pripadaju. Dat je prikaz različitih metoda atenuacije (oslabljenja) ćelija bakterija, među koje spada i ispitivani tretman pulsirajućim električnim poljima. S tim u vezi je razmatrana rezistentnost mikroorganizama na indukovani stres, a takođe su prikazana i dosadašnja saznanja vezana za postojanje tzv. "perzistera" - ćelija u okviru iste populacije, koje su otporne na indukovani stres. Navedena su takođe i probiotska svojstva koja određene BMK treba da poseduju da bi bile svrstane u grupu probiotika, kao i testovi koji se koriste za određivanje probiotske aktivnosti BMK. Potom je detaljno opisana tehnika atenuacije bakterija putem pulsirajućih električnih polja, mehanizmi delovanja primenjenih pulseva na ćelije, a zatim i faktori koji utiču na inaktivaciju mikroorganizama primenom PEP tretmana. Posebna pažnja posvećena je uticaju pulsirajućih električnih polja na permeabilizaciju ćelijske membrane, gde je dat detaljan opis interakcije ćelije na primenjeno električno polje, sa posebnim osvrtom na formiranje pora i mehanizme reverzibilne i ireverzibilne elektropermeabilizacije.

Eksperimentalni deo disertacije se sastoji iz Materijala i metoda rada, gde su ukratko opisane metode koje su korišćene u disertaciji, kao i rezultata istraživanja. U okviru rezultata obrađena je dinamika rasta i acidogena aktivnost autohtonog soja *Lactobacillus plantarum* 564, kao i sposobnost rasta ispitivanog soja na povišenim temperaturama. Potom su prikazani rezultati primene pulsirajućih električnih polja na ispitivani soj, koji se mogu podeliti u tri pod-poglavlja: primena nižih PEP tretmana (energije ispod 13 J/cm^3); primena visokih PEP tretmana (energije iznad 30 J/cm^3) i primena ponovnih PEP tretmana visokog napona, odnosno energije iznad 30 J/cm^3 . Takođe je praćena metabolička aktivnost tretiranih ćelija putem izotermalne kalorimetrije u toku inkubacije u nutritivnom medijumu od 24h nakon primenjenih tretmana. Ispitivanje potencijalnih probiotskih kriterijuma kontrolnih i PEP tretiranih ćelija prikazano je praćenjem preživljavanja ispitivanih ćelija u gastro-intestinalnim (GI) uslovima, utvrđivanjem rezistentnosti na antibiotike, kao i ispitivanjem antimikrobne aktivnosti na 7 patogenih sojeva.

U okviru Diskusije dobijenih rezultata detaljno je analizirana kriva rasta ispitivanog soja *Lb. plantarum* 564, gde je dato poređenje sa drugim sojevima *Lb. plantarum*, ukazujući na to da su rezultati istraživanja u skladu sa literaturnim podacima. Takođe je opisana acidogena sposobnost ispitivanog soja u 10% rekonstituisanom obranom mleku, kao i u MRS medijumu. Ustanovljena je izrazito slaba sposobnost acidifikacije ćelija *Lb. plantarum* 564 u obranom mleku i dato je obrazloženje na osnovu kojeg kandidat ukazuje da se ove bakterije ne mogu koristiti kao glavni starteri u proizvodnji sireva, već kao dopunske kulture. U ovom poglavlju su takođe obrazloženi rezultati tretiranja ćelija visokim temperaturnim režimima (60 i 80°C u trajanju od 1.5 i 4.5 min), kao i blažim termičkim tretmanom (45°C, 30 s). Visok stepen inaktivacije, koji je uočen nakon jačeg termičkog tretmana, predstavljao je pozitivan kontrolni uzorak. Međutim, bitno je istaći da najblaži termički tretman nije imao uticaj na rast i acidifikacionu sposobnost bakterija, čime je dokazano da porast temperature uzoraka koje nastaje usled Džulovog zagrevanja u toku najjačeg PEP tretmana (maksimum oko 42°C) nije uticao na krajnji rezultat primenjenog tretmana na ispitivane ćelije. Dejstvo samih PEP tretmana je detaljno obrazloženo, gde je primenom pulseva različite jačine ustanovljeno da PEP tretmani energije ispod 13 J/cm³ ne utiču na smanjenje vijabilnosti ćelija, već naprotiv utiču na porast metaboličke aktivnosti ćelija u toku inkubacije 24h nakon tretmana. Dobijeni rezultati su bili u skladu sa nedavno objavljenim istraživanjima u svetskoj literaturi. Potom je opisana primena visokih PEP tretmana uz detaljno obrazloženje rezultata, koji se odnose na značajan stepen atenuacije ćelija izloženih PEP tretmanima visoke energije (od 34.6 do 658.1 J/cm³), a slični mehanizmi inaktivacije su opisani u velikom broju literaturnih navoda. Međutim, kandidat je došao do veoma interesantnih podataka primenom ponovnih PEP tretmana visoke energije na već tretirane ćelije, što niko do sada u svetskoj literaturi nije objavio. Pojava da preživele ćelije nastavljaju sa rastom nakon PEP tretmana, kao i da pokazuju veću otpornost na ponovne tretmane, detaljno je razmatrana u ovom poglavlju. Diskusija je takođe obuhvatila acidifikacionu sposobnost PEP tretiranih ćelija, kao i njihovu potencijalnu probiotsku sposobnost.

Dobijeni rezultati ukazuju na veliki broj zapažanja i zaključaka, koji su izneseni u poglavlju Zapažanja i zaključci. Interesantan zaključak je da primena PEP tretmana ispod kritične granice potrebne za inaktivaciju ćelija (ispod 13 J/cm³) dovela do reverzibilne elektropermeabilizacije ćelija, što je pozitivno uticalo na rast i acidifikacionu sposobnost ćelija *Lb. plantarum* 564. Time se otvara mogućnost daljih ispitivanja primene ove tehnike u prehrambenoj industriji. S druge strane, sa povećanjem energije primenjenog PEP tretmana raste i stepen inaktivacije, ali preživela populacija nastavlja sa rastom nakon prestanka tretmana, formirajući novu populaciju koja nakon 24 sata inkubacije u MRS bujonu dostiže isti broj kao i netretirane ćelije, što predstavlja veoma interesantan zaključak. U radu je takođe zapaženo da je sa porastom primenjenog PEP tretmana došlo do znatnog produžetka lag-faze preživelih ćelija, što predstavlja jednu od karakteristika sub-populacije perzister ćelija. Na osnovu ovog zapažanja, iznet je zaključak da se porastom primenjene energije električnih pulseva faza oporavka tretiranih ćelija produžava, čime se odlaže početak eksponencijalne faze, a samim tim je i acidifikaciona aktivnost odložena. Međutim, konstatovano je da se rast tretiranih ćelija odvijao istom dinamikom kao i kod netretiranih, što dokazuju i rezultati dobijeni praćenjem stepena odavanja toplote tokom razvoja bakterija putem izotermalne kalorimetrije. Takođe je konstatovana veća otpornost preživela populacije na ponovne PEP tretmane, na osnovu čega je iznet zaključak da jači PEP tretmani izazivaju formiranje jače ćelijske membrane, kao i sintezu proteina koji pomažu ćeliji da bude otporna na stres, što dovodi do povećane otpornosti preživela sub-populacije na naredne tretmane. Vrlo je zanimljivo zapažanje da su ćelije izložene pulsevima

najviše energije (658.1 J/cm^3) dostigle isti pH kao i netretirane, ali u 10 puta manjem broju, što ukazuje na zaključak da PEP tretmani visoke energije nisu uticali samo na odlaganje acidifikacione aktivnosti, već i na poboljšanje same acidifikacione sposobnosti tretiranih ćelija. Ispitivanjem potencijalnih probiotskih osobina ćelija *Lb. plantarum* 564 ustanovljeno je da je nakon primenjenih PEP tretmana nova populacija pokazala veću otpornost na simulirane gastrointestinalne uslove, dok je rezistentnost na antibiotike bila selektivna, kao i antimikrobna aktivnost, u poređenju sa netretiranom populacijom.

Navedeni zaključci ukazuju na to da su neophodna detaljna istraživanja na ćelijskom nivou, kako bi se razjasnio uticaj pulsirajućih električnih polja na stadijume razvoja preživle populacije. Generalno, dobijeni rezultati predstavljaju interesantan uvod u naredna istraživanja koja bi trebalo izvršiti na metaboličkom i proteomičkom nivou.

3. OCENA DISERTACIJE

3.1. Savremenost i originalnost

Problematika disertacije se odnosi na aktuelnu tehnologiju primene pulsirajućih električnih polja u prehrambenoj industriji, koja se u svetu ispituje, a čija primena još uvek nije u potpunosti zaživela. Razlog se može tražiti u tome što mehanizam inaktivacije mikroorganizama pulsirajućim električnim poljima još uvek nije u potpunosti razjašnjen, kao i u tome što do sada nije dokazano da PEP tretman može u potpunosti zameniti termičku pasterizaciju tečnih prehrambenih proizvoda. Dosadašnja saznanja ukazuju da procesuiranjem hrane pulsirajućim električnim poljima dolazi do netermičke elektroplazmolize ćelijskog materijala, što rezultira povećanoj permeabilnosti ćelijske membrane. Međutim, u zavisnosti od primenjenog PEP tretmana, taj proces može biti reverzibilan i ireverzibilan. Ukoliko se primeni takav PEP tretman koji izaziva reverzibilnu peremabilizaciju ćelijske membrane, tada ćelije bakterija bivaju samo stresirane, dok ireverzibilan proces dovodi do liziranja i izumiranja ćelija. U dosadašnjim istraživanjima, upotreba PEP tretmana se bazirala na inaktivaciji patogenih mikroorganizama u cilju konzervisanja hrane, dok je svetska literatura vrlo ograničena podacima na temu primene pulsirajućih električnih polja radi stresiranja bakterija mlečne kiseline. U okviru ove disertacije je upravo ispitivano dejstvo PEP tretmana niskog energetskeg inputa na ćelije laktobacila radi postizanja reverzibilne elektropermeabilizacije ćelijske membrane i poboljšanja rasta bakterija. Dobijeni rezultati predstavljaju 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 dobija sve veću pažnju u savremenoj nauci, gde sve veći broj istraživača pokušava da dokaže mogućnost primene ove netermičke tehnike kao alternative termičkim tretmanima. Međutim, u cilju obezbeđenja zdravstveno bezbedne hrane, potrebno je poznavati mehanizme dejstva inaktivacije mikroorganizama, kao i ponašanje preživle populacije, koja može da se oporavi nakon sub-letalne povrede, kao što je stres indukovao dejstvom PEP tretmana. Dobijeni rezultati istraživanja doprinose boljem razumevanju ponašanja ćelija nakon primene jačih PEP tretmana, a takođe mogu poslužiti kao uvod za naredna istraživanja na metaboličkom i proteomičkom nivou.

U radu je takođe dokazano da ispitivane bakterije soja *Lb. plantarum* 564 poseduju probiotska svojstva, a takođe su ista ustanovljena i kod PEP tretiranih ćelija ukazujući na to da primenjeni tretmani ne utiču na gubitak glavnih probiotskih karakteristika, kao što su sposobnost preživljavanja u simuliranim uslovima u gastro-intestinalnom traktu. Dobijeni rezultati mogu poslužiti kao osnova za dalje ispitivanje drugih probiotskih bakterija i potencijalnu primenu datih tretmana u prehrambenoj industriji.

3.2. Osvrt na referentnu i korišćenu literaturu

Prilikom izrade disertacije korišćena je relevantna literatura od 290 bibliografskih referenci, koje uključuju najnovije naučne radove, klasične radove, doktorske disertacije i knjige. Navedeni radovi su korišćeni prilikom samog planiranja eksperimentalnog rada, kao i u tumačenju i analizi eksperimentalnih rezultata istraživanja, diskusiji dobijenih rezultata i izvođenju zaključaka. Broj navedenih referenci ukazuje na širinu i temeljitost kandidata u pristupu i obradi same disertacije. Iz obrazloženja predložene teme doktorske disertacije i objavljenih radova u prijavi koju je kandidat mr Sanja Seratlić, dipl. inž. podnela, kao i iz navoda literature koju je kandidat koristila u istraživanju, uočava se adekvatno poznavanje predmetne oblasti istraživanja, koja je aktuelna u svetu.

3.3. Opis i adekvatnost primenjenih naučnih metoda

U izradi ove disertacije izvršeni su određeni tretmani i primenjene su određene eksperimentalne metode, kao što sledi:

- Priprema kulture vršena je trodnevnom propagacijom u nutritivnom medijumu (MRS bujon) na 37°C, nakon čega je ukupan broj ćelija *Lb. plantarum* 564 određen indirektnom metodom po Kohu;

- Pored brojanja ukupnih kolonija (eng. *cfu*), merena je i optička gustina inokulisanog MRS bujona na talasnoj dužini od 600 nm uz pomoć spektrofotometra;

- Acidogena aktivnost ispitivanog soja praćena je direktnim merenjem pH vrednosti i određivanjem titracione kiselosti u određenim vremenskim intervalima tokom inkubacije u 10% rekonstituisanom obranom mleku i MRS bujonu;

- Tretiranje bujonske kulture *Lb. plantarum* 564 povišenim temperaturama (45°, 60°C i 80°C u trajanju od 30s, 90s i 270s, respektivno) i praćenje rasta preživelih ćelija u nutritivnom medijumu vršeno je merenjem optičke gustine i pH vrednosti u određenim vremenskim intervalima tokom inkubacije;

- Tretman pulsirajućim električnim poljima izvršen je nad ćelijama u mid-eksponencijalnoj fazi rasta, pri čemu je suspenzija ćelija tretirana monopolarnim pravougaonim pulsevima različite jačine električnog polja (od 4.5 do 31.5 kV/cm) i različitog broja pulseva (10 i 100), čija je dužina iznosila 5 µs, pri frekvenciji od 100 Hz.

- Metabolička aktivnost netretiranih i PEP tretiranih bakterija kontinuirano je praćena putem TAM Air izotermalnog kalorimetra kroz stepen oslobađanja toplote tokom rasta i razvoja ćelija u nutritivnom medijumu u toku 24h inkubacije na 37°C.

- Određivanje stepena preživljavanja u gastrointestinalnim uslovima vršeno je primenom

modifikovane verzije gastro testa i testa preživljavanja u duodenalnim uslovima. Simulirani uslovi želuca su podrazumevali upotrebu 0.3% rastvora pepsina sa 0.5% NaCl, čiji je pH 2.0 podešen uz pomoć 1M HCl. Uslovi u dvanaestopalačnom crevu simulirani su putem rastvora sa 0.4% žučnih soli i 0.2% pankreatina.

- Ispitivanje tolerantnosti na antibiotike vršeno je na MRS agaru upotrebom diskova sa 8 različitih antibiotika;

- Za određivanje antimikrobne aktivnosti primenjen je tzv. "SPOT test" sa bikarbonatom, a ispitivanje je vršeno 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.

Dobijeni rezultati su statistički obrađeni određivanjem aritmetičke sredine dobijenih podataka, kao i grupisanjem oko srednje vrednosti putem određivanja standardne devijacije i koeficijenta varijacije. Statistička značajnost je testirana analizom ANOVA, gde je primenjen Fišerov LSD test.

Navedeni postupci u osnovi pripadaju eksperimentalnim i teorijskim istraživanjima i u potpunosti odgovaraju problemu i postavljenom cilju disertacije.

3.4. Primenjivost ostvarenih rezultata

Dobijeni rezultati predstavljaju osnovu za dalja istraživanja koja će se bazirati na ispitivanju mogućih mehanizama promene ćelijske membrane tokom rasta, sa posebnim osvrtom na period srednje i kasne ekponencijalne faze rasta, kao i na ispitivanju posledica vezanih za odbrambeni mehanizam ćelije pod usticajem PEP indukovanoog stresa.

Studije o diverzitetu populacije predstavljaju ključno poglavlje u razumevanju mehanizama preživljavanja ćelija bakterija nakon dejstva raznih stresova. Stoga, dalja karakterizacija PEP preživele subpopulacije ćelija bi doprinela boljem razumevanju samog diverziteta u okviru iste populacije, neophodnog za otpornost i sposobnost prilagođavanja ćelija laktobaila u različitim sredinama. Osim toga, dokazano je da odgovori ćelije na određeni stres mogu dramatično da poboljšaju naknadno ponašanje u određenim sredinama, što može dovesti do poboljšanja tehnoloških karakteristika, kao i gastrointestinalne otpornosti određene bakterijske vrste. Time bi se otvorila mogućnost razmatranja primene PEP tehnologije u prehrambenoj industriji kroz upotrebu PEP tretiranih laktobacila kao dopunskih kultura.

3.5. Ocena dostignutih sposobnosti kandidata za samostalan naučni rad

Kandidat mr Sanja Seratlić, dipl. inž. je tokom izrade ove doktorske disertacije pokazala samostalnost u kleranju i realizaciji eksperimenta, kao i analizi i interpretaciji rezultata. Uspešno vladanje savremenim naučnim saznanjima i metodama, kao i zahtevna naučna zrelost koju kandidat poseduje, ukazuju na to da je kandidat sposoban za dalji samostalan naučno-istraživački rad.

4. OSTVARENI NAUČNI DOPRINOS

4.1. Prikaz ostvarenih naučnih doprinosa

- Dosadašnja istraživanja u svetu uglavnom su bazirana na upotrebi PEP tretmana radi inaktivacije 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. Stoga je deo istraživanja ove doktorske disertacije posvećen proučavanju dejstva električnih pulseva niskog energetskog inputa na ćelije ispitivanih laktobacila, pri čemu je ustanovljeno da primenjeni PEP tretmani uzrokuju reverzibilnu elektropermeabilizaciju ćelijske membrane i dovode do poboljšanja rasta ćelija. Na taj način, dobijeni rezultati predstavljaju temelj za dalja istraživanja na temu fenomena elektroporacije i primene električnih pulseva u cilju poboljšanja rasta mikrobioloških ćelija.

- S druge strane, rezultati istraživanja predstavljaju bitan pomak napred za industrijsku relevantnost primene pulsirajućih električnih polja u prehrambenoj industriji. U cilju proizvodnje zdravstveno bezbednih namirnica, neophodno je dobro poznavanje ponašanja preživele subpopulacije mikroorganizama tretiranih pulsirajućim električnim poljima. Dobijeni rezultati istraživanja ukazuju ne samo na mogućnost oporavka preživele subpopulacije, već i na povećanu otpornost iste na ponovne tretmane. Dokaz o postojanju perzistera unutar iste populacije mikroorganizama ukazuje na činjenicu da PEP tretman, kao alternativna netermička tehnika za inaktivaciju mikroorganizama, ne može u potpunosti zameniti postupak pasterizacije, već se može primenjivati kao dopunski tretman.

- Rezultati istraživanja takođe ukazuju na to da ispitivane bakterije soja *Lb. plantarum* 564 poseduju probiotska svojstva, a s obzirom na to da su pojedini tretmani pulsirajućim električnim poljima doveli do poboljšanja istih, dobijeni rezultati mogu poslužiti kao osnova za dalje ispitivanje drugih probiotskih bakterija i potencijalnu primenu datih tretmana u industriji.

- Na kraju istraživanja ostvareni rezultati takođe doprinose boljem razumevanju efekta pulsirajućih električnih polja na ćelije laktobacila. Takođe, 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.

4.2. Kritička analiza rezultata istraživanja

Sagledavanjem ciljeva istraživanja, postavljenih hipoteza i dobijenih rezultata, konstatujemo da istraživački rad, koji je kandidat mr Sanja Seratlić, dipl. inž. sproveda, u potpunosti zadovoljava kriterijume jedne doktorske disertacije. Uvidom u dostupnu literaturu iz ove oblasti istraživanja, kao i rezultate dobijene primenom odabrane metodologije u okviru ovog rada, može se primetiti da su korišćene metode u skladu sa metodama iz literature i da je kandidat došao do vrlo interesantnih rezultata. Novi pristup u istraživanju oblasti primene pulsirajućih električnih polja, koja je vrlo aktuelna u svetu, doprineo je izvođenju bitnih zaključaka, koji pružaju značajan naučni i stručni doprinos.

4.3. Verifikacija naučnih doprinosa

Kandidat mr Sanja Seratlić, dipl. inž. je do sada, samostalno i u saradnji sa drugim autorima, objavila i saopštila ukupno 31 naučni rad.

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 istaknutom međunarodnom časopisu (M₂₂)

2. **Seratlić S.**, Bugarski, B., Radulović, Z., Dejmek, P., Wadsö, L., Nedović, V.: *Electroporation Enhances the Metabolic Activity of Lactobacillus plantarum 564*, - Food Technol. Biotechnol, Vol. 51 (4), 2013, in press (ISSN 1330-9862).

Rad u međunarodnom časopisu (M₂₃)

3. **Seratlić S.**, Miloradović Z., Radulović Z., Mačej 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)

4. **Seratlić, S.**, Mačej, 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.
5. **Seratlić, S.**, Mačej, 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 međunarodnog skupa štampano u izvodu (M₃₄)

6. **Seratlić, S.**, Mačej, 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.
7. **Seratlić, S.**, Mačej, 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.
8. **Seratlić, S.**, Mačej, 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)

9. Maćej, O., Jovanović, S., **Seratlić, S.**, Barać, M.: *Proizvodnja svežih sireva na bazi koagregata proteina mleka*, - Biotehnologija u stočarstvu, Vol. 20 (1-2), 2004, 119-129.
10. Maćej, O., Jovanović, S., Barać, M., **Seratlić, 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.
11. Maćej O., Jovanović, S., Niketić, G., Vučić, T., **Seratlić, S.**: *Senzorne karakteristike Zlatarskog sira*, - XVII Inovacije u stočarstvu, Biotehnologija u stočarstvu, Vol. 22, 2006, 317-327.
12. **Seratlić, S.**, Maćej. O., Jovanović, S., Marinković, S.: *Kvalitet mleka u proizvodnji sireva sa plavo-zelenim plesnima*, - Savremena poljoprivreda, 56 (5), 2007, 81-85.
13. **Seratlić, S.**, Maćej. O., Jovanović, S., Jovanović, Z.: *Mikroflora sireva sa plavozelenim plesnima*, - Biotehnologija u stočarstvu, Vol. 24, 2008, 237-258.
14. Vučić, T., Jovanović, S., Maćej, O., Barać, M., **Seratlić, S.**: *Tehnologija i kvalitet užičkog kajmaka*, - Biotehnologija u stočarstvu, Vol. 24, 2008, 267-277.

Rad u časopisu nacionalnog značaja (M₅₂)

15. Maćej, O., Jovanović, S., **Seratlić, 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.
16. Jovanović, S., Maćej, O., Marinković, S., **Seratlić, S.**, Vučić, T.: *Karakteristike sireva sa plavo-zelenim plesnima u tipu Gorgonzole*, - Mlekarstvo 27, 2004, 927-930.
17. Maćej, O., Jovanović, S., Dozet, N., **Seratlić, S.**, Vučić, T., Savić, Ž.: *Tehnologija autohtone izrade Sjeničkog sira na širem području Sjeničko-peštarske visoravni*, - Mlekarstvo, Vol. 3 (27), 2004, 931-933.
18. Maćej, O., **Seratlić 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.
19. **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.
20. **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.
21. 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.
22. 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)

23. **Seratić, S.:** *Vitamini u svežem i termički tretiranom mleku i mlečnim proizvodima*, - Zbornik radova Simpozijuma "Proizvodnja i prerada mleka", Poljoprivredni fakultet, Beograd, 2000, 35-47.
24. **Seratić 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.
25. Jovanović, S., Maćej, O., Vučić T., **Seratić S.:** *Karakteristike autohtone proizvodnje zlatarskog sira*, - Zbornik radova II Simpozijuma "Mleko i proizvodi od mleka", Tara, Srbija i Crna Gora, 2005, 84-86.
26. Jovanović, S., Maćej, O., Vučić T., **Seratić 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.
27. **Seratić, 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.
28. Vučić, T., Jovanović, S., Maćej, O., Barać, M., **Seratić, 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.
29. Maćej O., Jovanović, S., **Seratić, 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.
30. Maćej O., Jovanović, S., Vučić, T., **Seratić, 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)

31. **Seratić, 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.

5. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu iznetih činjenica, Komisija smatra da doktorska disertacija kandidata mr Sanje Seratlić, dipl. inž, pod nazivom „**Uticaj pulsirajućih električnih polja na rast i aktivnost autohtonog soja *Lactobacillus plantarum* 564**” je napisana u skladu sa navedenim obrazloženjem u prijavi teme i sadrži sve bitne elemente date u Pravilniku o doktorskim studijama Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu. U disertaciji se razmatra ponašanje ćelija autohtonog soja *Lb. plantarum* 564 nakon tretmana pulsirajućim električnim poljima različitog energetskog inputa. Disertacija predstavlja značajan i originalan naučni doprinos, što potvrđuje jedan rad objavljen u vrhunskom međunarodnom časopisu i drugi rad, koji je u štampi u istaknutom međunarodnom časopisu.

Kandidat mr Sanja Seratlić, dipl. inž, je pokazala izraženu samostalnost i potrebne veštine u izradi doktorske disertacije i poseduje sve neophodne sposobnosti za bavljenje naučno-istraživačkim radom. Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću da prihvati Referat i da ga zajedno sa podnetom disertacijom mr Sanje Seratlić učini dostupnim na uvid javnosti u zakonski predviđenom roku.

U Beogradu, 07.10.2013.

ČLANOVI KOMISIJE

1. Dr **Branko Bugarski**, red. prof.
Tehnološko-metalurški fakultet
Univerzitet u Beogradu

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

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

4. Dr **Viktor Nedović**, red. prof.
Poljoprivredni fakultet
Univerzitet u Beogradu

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