

ТЕХНОЛОШКО-МЕТАЛУРШКИ
ФАКУЛТЕТ
35/27
(Број захтева)

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ТЕХНИЧКИХ НАУКА
(Назив већа научне области и коме се захтев упућује)

13.03.2017.
(Датум)

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на предлог теме докторске дисертације

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду („Гласник Универзитета“, број 131/06), дате сагласност на предлог теме докторске дисертације:

„Утицај различитих поступака екстракције на садржај и биолошка својства полифенола и протеина из семена жуте соје различитог порекла“
(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ: ХЕМИЈА И ХЕМИЈСКА ТЕХНОЛОГИЈА

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

САЊА (Благоје) БУРОВИЋ (рођена Стојаковић), дипл. инж. технологије

2. Назив и седиште факултета на коме је стекао основно образовање: Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет.

3. Година дипломирања: 2005.

Обавештавамо Вас да је Наставно-научно веће, на седници одржаној 23.02.2017. године размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације.

Чланом 1. Закона о изменама и допунама Закона о високом образовању (Сл. гласник РС“ бр. 87/2016), поред осталог, прописано је: „Студенти уписани на докторске студије, односно кандидати који су пријавили докторску дисертацију до ступања на снагу овог закона, имају право да заврше студије по започетом плану и програму, условима и правилима студија, односно да стекну научни степен доктора наука, најкасније до краја школске 2017/2018. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

Прилог:

1. Предлог теме докторске дисертације са образложењем
2. Акт надлежног тела факултета о подобности теме за израду докторске дисертације
3. Подаци о ментору.

ДП

На основу чл. 30. став 3. Закона о високом образовању, чл. 40. Статута ТМФ-а и чл. 32. Правилника о докторским студијама ТМФ, на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 23.02.2017. године, донета је

О Д Л У К А

о прихватању Реферата Комисије за оцену подобности теме и кандидата
за израду докторске дисертације

Прихвата се Реферат Комисије за оцену подобности теме и кандидата и одобрава израда докторске дисертације САЊИ ЂУРОВИЋ (рођена Стојаковић), дипл. инж. технологије, под називом: „Утицај различитих поступака екстракције на садржај и биолошка својства полифенола и протеина из семена жуте соје различитог порекла“.

Одлуку о давању сагласности на предлог теме докторске дисертације доноси Универзитет у Београду.

За ментора се одређује др Зорица Кнежевић-Југовић, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет.

Одлуку доставити: Универзитету у Београду на сагласност, кандидату, ментору, Служби за наставно студентске послове и архиви Факултета.

Д Е К А Н

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

за кандидата Сању Ђуровић

Име и презиме ментора: Зорица Кнежевић-Југовић

Звање: редовни професор, Универзитет у Београду Технолошко-металуршки факултет

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. S. Jakovetić, N. Luković, B. Jugović, M. Gvozdenović, S. Grbavčić, J. Jovanović, **Z. Knežević-Jugović**, Production of Antioxidant Egg White Hydrolysates in a Continuous Stirred Tank Enzyme Reactor Coupled with Membrane Separation Unit (2015) Food and Bioprocess Technology, 8 (2), pp. 287-300. (ISSN: 1935-5130; IF(2014) 2,691, Food Science & Technology 20/122).
2. A.A. Salim, S. Grbavčić, N. Šekuljica, A. Stefanović, S. Jakovetić Tanasković, N. Luković N., **Z. Knežević-Jugović**, Production of enzymes by a newly isolated Bacillus sp. TMF-1 in solid state fermentation on agricultural by-products: The evaluation of substrate pretreatment methods, Bioresource Technology, (2017) 228, pp. 193-200. (ISSN: 0960-8524, IF(2015) 4,917, Biotechnology & Applied Microbiology 17/161).
3. S. Ž. Grbavčić, D. I. Bezbradica, L. T. Izrael-Živković, N. S. Avramović, N. B. Milosavić, I. M. Karadžić, **Z. D. Knežević-Jugović**, Production of lipase and protease from an indigenous *Pseudomonas aeruginosa* strain and their evaluation as detergent additives: Compatibility study with detergent ingredients and washing performance, Bioresource Technology, (2011), 102(24) (2011), 11226-11233. (ISSN: 0960-8524; IF(2010) 4,365; 19/160 Biotechnology & Applied Microbiology).
4. S. M. Jakovetić, N. D. Luković, N. M. Bošković-Vragolović, D. I. Bezbradica, R. Picazo-Espinosa, **Z. D. Knežević-Jugović**, Comparative Study of Batch and Fluidized Bed Bioreactors for Lipase-Catalyzed Ethyl Cinnamate Synthesis, Industrial & Engineering Chemistry Research, 52(47) (2013), 16689-16697 (ISSN: 0888-5885; IF(2011) 2,206; 30/133, Engineering, Chemical).
5. **Z. Knežević**, N. Milosavić, D. Bezbradica, Ž. Jakovljević, R. Prodanović, Immobilization of lipase from *Candida rugosa* on Eupergit C supports by covalent attachment, Biochemical Engineering Journal, 30(3) (2006) 269-278. (ISSN: 1369-703X; IF(2007) 1,872; 14/114 Engineering, Chemical).

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: 07.02.2017.

М.П.

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU

Predmet: Podobnost teme i kandidata Sanje Đurović (devojačko Stojaković) za izradu doktorske disertacije

Odlukom br 35/505 od 24.11.2016. godine, imenovani smo za članove Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata Sanje Đurović (devojačko Stojaković) za izradu doktorske disertacije i naučne zasnovanosti teme: „**Uticaj različitih postupaka ekstrakcije na sadržaj i biološka svojstva polifenola i proteina iz semena žute soje različitog porekla**“.

Na osnovu materijala priloženog uz Zahtev kandidata, Komisija podnosi sledeći

R E F E R A T

1.Podaci o kandidatu

1.1. Biografski podaci

Sanja Đurović (rođ. Stojaković) rođena je 26.03.1979 g. u Osijeku, R. Hrvatska. Osnovnu školu „Jovan Jovanović-Zmaj“ i gimnaziju “Ivo Lola Ribar” završila je u Sremskoj Mitrovici. Studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, upisala je školske 1997/1998 godine. Diplomirala je na TMF-u na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju 19.05.2005. godine sa ocenom 10 na diplomskom radu i prosečnom ocenom 8,44 u toku studija. Kandidatkinja je 2005 g. upisala magistarske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu, smer biotehnologija, pod mentorstvom dr Zorice Knežević-Jugović, redovnog profesora. 2006 g. kandidatkinja je na osnovu odluke Tehnološko-metalurškog fakulteta (zbog potrebe usaglašavanja sa Bolonjskom konvencijom), a pošto je položila dovoljan broj ispita, prešla na doktorske studije. Položila je sve ispite predviđene planom i programom doktorskih studija, uključujući i završni ispit.

Predmet	Ocena	ESPB
1. Matematička obrada eksperimentalnih rezultata	10	5
2. Odabrana poglavlja biohemije-vitamini	10	5
3. Industrijska mikrobiologija	10	5
4. Hemijska kinetika	10	5
5. Biohemijska kinetika	10	5
6. Hemija pesticida	10	5
7. Sanitarna mikrobiologija	10	4
8. Inženjerstvo ćelija i tkiva	8	4

9. Imobilisani sistemi u biotehnologiji	10	6
10. Mikrobiološki procesi u zaštiti životne sredine	10	4
11. Završni ispit	30	30

Počev od 2005. g. Sanja Đurović je zaposlena u Institutu za zaštitu bilja i životnu sredinu u Beogradu, u Laboratoriji za fitofarmaciju i zaštitu životne sredine, na radnom mestu istraživača-pripravnika, a od 17.03.2008. g. na radnom mestu istraživača-saradnika. 30.08.2016. godine kandidatkinja je izabrana u zvanje stručni saradnik, a 20.01.2017. godine u zvanje stručni savetnik. U periodu 2006-2007, učesnik je na projektu „Razrada i uvođenje novih tehnologija u proizvodnji visokokvalitetne hrane i suzbijanju novih nedovoljno poznatih štetnih organizama u biljnoj proizvodnji 2 BTN 006817 B, Dr Mira Starović, Ministarstvo nauke i tehnološkog razvoja.

U istom periodu učesnik je i međunarodnog projekta „Valorization, sanitation and production of local wines“, u okviru kojeg je od 17.09.2006. do 30.09.2006 g. boravila na stručnoj praksi na Institutu „Centro di Ricerca e Sperimentazione in Agricoltura, Basile Caramia“, Bari, Italija, radi usvajanja metodologije određivanja okratoksina A (OTA) u vinu i soku od grožđa.

U periodu 2008-2011, učesnik je na projektu „Optimizacija primene hemijskih sredstava u zaštiti bilja povećanjem efikasnosti dijagnostičkih metoda u proceni rizika pojave bolesti, štetočina i korova“ TR 20051, Dr Mira Starović, Ministarstvo nauke i tehnološkog razvoja.

U periodu 2011-2017, učesnik je na projektu „Integralni sistemi gajenja ratarskih useva: očuvanje biodiverziteta i plodnosti zemljišta“ TR 31037, Dr Milena Simić, Ministarstvo nauke i tehnološkog razvoja.

U periodu 2011-2017, učesnik je na projektu „Razrada integrisanog upravljanja i primene savremenih principa suzbijanja štetnih organizama u zaštiti bilja“ TR 31018, Dr Veljko Gavrilović, Ministarstvo nauke i tehnološkog razvoja.

Koautor je jednog (1) rada u međunarodnim časopisima (oznaka grupe M20: 1 rad M24); deset (10) radova u časopisima nacionalnog značaja (oznaka grupe M50: 5 radova M51, 3 rada M52, 2 rada M53) i 18 saopštenja na domaćim i međunarodnim skupovima (5 M33, 8 M34, 1 M63 i 4 M64).

Spisak objavljenih i saopštenih naučnih i stručnih radova

Rad u časopisu međunarodnog značaja verifikovanog posebnom odlukom (M24):

1. Nikolić, B., Dodig, D., Jovanović, V., Janjić V., **Đurović S.**, Effects of Temperature and light on induction of Chl a fluorescence in situ: An ecophysiological view, *Arch. Biol. Sci.*, Belgrade, 2008, 60 (4): 567-572, ISSN:0354-4664; IF(2009) 0,238, Biology (73/76).

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini (M33):

2. Nikolić B., Drinić G., Jovanović V., Waisi H., Milićević Z. and **Đurović S.**, Influence of Root Manipulation on Herbicide Sulphosate Induced Inhibition of Growth and Photosynthesis in Maize (*Zea mays* L.), in *Proceedings of International Symposium: Current Trends in Plant Protection*, ed. Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade , 25-28 September 2012, pp. 192-200, ISBN: 978-86-910951-1-6; UDK: 633.15-295.024.
3. Nikolić B., Dragičević V., Waisi H., **Đurović S.**, Milićević Z., Spasojević I., Brankov M., Impact of root manipulation and brassinosteroids on growth, photosynthesis and

thermodynamics of maize at lower temperatures, *PHYSICAL CHEMISTRY 2014, 12th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry*, eds. Ž. Čupić and S. Anić; September 22-26, 2014, Belgrade, Serbia, pp. 477-481, ISBN: 978-86-82475-31-6.

4. Milivojević D.B., Nikolić B.R., **Đurović S.**, Waisi H., Dragičević V., Drinić G., Effect of arsenic on phosphorus content in different organs and chlorophyll fluorescence in primary leaves of soybean, in „WeBIOPATR2013 Particulate Matter: Research and Management“, *Proceedings from the 4th WEBIOPATR Workshop and Conference*, eds. Milena Jovašević-Stojanović and Alena Bartonova, Oktober, 2-4. 2013. Belgrade, Serbia, pp. 176-180, ISBN: 978-86-830.
5. Nikolić B., Dragičević V., Stojiljković M., Waisi H., **Đurović S.**, Spasojević I., Simić M., Effect of different Mo fertilizers on yield, chemical composition of seed and some physiological parameters in two soybean (*Glycine max.* Merr.) cultivars, in *Book of Proceedings of „AGROSYM 2014“- Fifth International Scientific Agrucultural Symposium*, ed. Dušan Kovačević, Oktober, 23-26. 2014, Jahorina Mountain (near Sarajevo), Bosnia and Herzegovina, pp. 163-168, ISBN: 978-99955-751-9-9.
6. Dragičević V., Nikolić B., Waisi H., Stojiljković M., **Đurović S.**, Spasojević I., Perić V., Alterations in factors that affect availability of mineral nutrients in soybean grain induced by foliar fertilising, *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2:12 (28 Apr 2015), ed. Alessandro Piccolo, Special Issue dedicated to: *CEFood 2014: “Food Chain Integration”*, 21 to 24 May 2014, Ohrid, Macedonia, ISSN: 2196-5641

(<http://www.chembioagro.com/content/2/1/12>; DOI: 10.1186/s40538-015-0034-4;).

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M34):

7. Nikolić B., Dodig D., Jovanović V., Marković A. and **Đurović S.**, The Effect of Fast-Changing Light and Temperature During Solar Eclipse on the Induction of Chla Fluorescence *In Situ* in Wheat, in *Book of Abstracts of 5th Balkan Botanical Congress*, ed. Vladimir Stevanović, Faculty of Biology, University of Belgrade, Belgrade, 2009, pp. 118-119, ISBN: 978-86-7078-056-9.
8. Marisavljević D., Pavlović D., Pfaf-Dolovac E., **Đurović S.**, Soil impoverishment caused by weediness of invasive weed species *Iva xanthifolia* (Giant sumpweed), *15th European Weed Research Society (EWRS) Symposium*, edited by Asszisztencia Congress Bureau Ltd. Szent Istvan krt.7, H-1055 Budapest, Hungary, 12-15. Juli 2010, Kaposvar, Mađarska, Proceedings pp. 216, ISBN: 978-963-9821-24-8.
9. Dragičević V., Nikolić B., Waisi H., Stojiljković M., Spasojević I., **Đurović S.**, Variations in some antioxidants in soybean grain affected by foliar fertilizers, in *Book of Abstracts of 8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries (ICOSECS 8)*, organized by Society of Albanian Chemists et al., ed. Sofija Sovilj and Aleksandar Dekanski, Serbian Chemical Society, Belgrade, 2013, pp. 259, ISBN: 978-86-7132-053-5.
10. Waisi H., Nikolić B., Dragičević V., Pavlović D., Vujičić M., **Đurović S.**, Influence of brassinosteroid based fertilizer on the germination of two maize hybrids, in *Book of Abstracts of V Congress of the Serbian Genetic Society*, ed. Branka Vasiljević and Snežana

Mladenović-Drinić, 28 September-02 Oktober 2014, Belgrade (erlier Kladovo), Serbia, pp. VII-69 Poster, ISBN: 978-86-87109-10-0.

11. Nikolić B., Dragičević V., Waisi H., Stojiljković M., Spasojević I., **Đurović S.**, Milićević Z., Influence of different non-standard fertilizers on yield and nutritive values of seeds of two soybean genotypes, in *COST Action Project FA 0905, „Mineral-Improved Crop Production for Healthy Food and Feed“ Final Conference Proceedings Book*, ed. Levent Ozturk, Sabanci University, Istanbul, Turkey, 17-19 March 2014, Ela Quality Resort, Antalya-Belek, Turkey, pp. 112-113, ISBN: 978-605-4348-72-5.
12. Waisi H., Nikolić B., Jovanović V., **Đurović S.**, Milićević Z., The impact of non-standard fertilizers on yield, pomological and biochemical characteristics of apples, *AGRORES 2015, IV International Symposium and XX Scientific-Professional Conference of Agronomists of Republic of Srpska*, ed. Gordana Đurić, etno willage Stanišići, Bijeljina, Republik of Srpska, Bosnia and Herzegovina, 02 – 06. March 2015., pp. 108, ISBN: 978-99938-93-30-1.
13. Waisi H., Nikolić B., Dragičević V., Šaponjić B., Jovanović V., **Đurović S.**, Some aspects of mode of action of brassinosteroids in maize, in *Proceedings of abstracts of 2nd International Conference on Plant Biology and 21st Symposium of the Serbian Plant Physiology Society* ed. Serbian Plant Physiology Society and Institute for Biological Research „Siniša Stanković“, University of Belgrade, Petnica, 2015, pp. 61-62, ISBN: 978-86-912591-3-6.
14. Dragičević V., Nikolić B., Živković S., Waisi H., **Đurović S.**, Jovanović V., Kravić N., Dodig D., The effect of non-standard foliar fertilizers on harvest and quality of grain of barley, *5th international symposium on agricultural sciences*, ed. Gordana Đurić, Banja Luka, Bosnia and Herzegovina, February 29 – March 3, 2016., pp 63, ISBN: 978-99938-93-37-0.

Rad u vodećem časopisu nacionalnog značaja (M51):

15. Nikolić, B., Milićević, Z., **Đurović S.**, Drinić, G., Jovanović, V., Janjić, V., Različiti aspekti inhibicije rastenja i fotosinteze kukuruza (*Zea mays* L.) fosfonatnim herbicidom sulfosatom. 4. Dejstvo na biljke rasle u kontrolisanim uslovima, *Zaštita bilja*, 2007, Vol. 58 (1-4): 105-121, ISSN: 0372-7866, UDK: 632.9.
16. **Stojaković S.** (udato: Đurović), Bezbradica, D., Mijin, D., Knežević Z., Šiler-Marinković S., The effects of zeolite and silica gel on synthesis of amyl isobutyrate catalyzed by lipase from *Candida rugosa* (Article), *Hemijska Industrija*, 2008, Vol. 62 (2): 64-68, ISSN: 0367-598X, IF(2009) 0,117, doi:10.2298/HEMIND0802064S.
17. Nikolić B., Drinić G., **Stojaković S.**, Jovanović V., Đalović I., Milićević Z., Različiti aspekti inhibicije rastenja i fotosinteze kukuruza maize (*Zea mays* L.) uzrokovanih fosfonatnim herbicidom sulfosatom. 5. Manipulacija statusom korena biljaka raslih u kontrolisanim uslovima, *Acta herbologica*, Beograd 2011, Vol. 19, No 2, 57-63, ISSN: 0354-4311, UDK: 632.95.024.
18. Nikolić B., Jovanović V., **Stojaković S.**, Milićević Z., Janjić V. i Dodig D., Uticaj fitohormona kinetina na razvoj fitotoksičnog procesa uzrokovanog fosfonatnim herbicidom sulfosatom, *Acta herbologica*, Beograd, 2011, Vol. 19, No 2, 65-69, ISSN: 0354-4311, UDK: 632.95.025.

19. Pavlović D., Nikolić B., **Đurović S.**, Waisi H., Anđelković A., Marisavljević D., Chlorophyll as a measure of plant health: Agroecological aspects, *Pestic. Phytomed*, Belgrade, 2014, 29(1): 21–34, ISSN: 1820-3949, UDK: 581.132:632; DOI: 10.2298/PIF1401021P.

Rad u časopisu nacionalnog značaja (M52):

20. Pavlović D., Nikolić B., Pfaf-Dolovac E., Marisavljević D., Milićević Z., **Đurović S.**, Hlorofil kao indikator reakcije biljaka na herbicide, *Zaštita bilja*, 2010, Vol. 61 (2): No 272, 67-86, ISSN: 0372-7866, UDK: 632.9.
21. Nikolić B., Ugrinović M., **Đurović S.**, Zdravković J., Milićević Z., Uticaj drugih đubriva i specijalnih proizvoda na hortikulturene biljke. 1. Prinos i komponente prinosa jabuke i paradajza, *Zaštita bilja*, 2010, Vol 61(4), No 274: 301-313, ISSN: 0372-7866, UDK: 634/635]:631.811.
22. Pavlović D., Marisavljević D., Radivojević Lj., Nikolić B., Waisi H., Anđelković A., **Đurović S.**, Answer of weed populations and crops to glyphosate, *Zaštita bilja*, 2013 Vol. 64 (2), No 284: 82-89, ISSN: 0372-7866, UDK: 632.954.025.

Rad u naučnom časopisu (M53):

23. Nikolić B., Drinić G., Jovanović V., Janjić V., **Stojaković S.**, Different aspects of inhibition of growth and photosynthesis of maize (*Zea mays* L.) by the phosphonate herbicide sulphosate 1. Root manipulation, *Acta herbologica*, 2007, Vol. 16 (1): 29-39, ISSN: 0354-4311, UDK:58.
24. Waisi H., Nikolić B., Jovanović V., **Đurović S.**, Milićević Z., Uticaj drugih đubriva i specijalnih proizvoda na hortikulturene biljke. 2. Prinos, pomološke i biohemijske karakteristike plodova jebuka, *Zaštita bilja*, 2014, Vol. 65(4): 170-175, ISSN: 0372-7866, UDK: 634.11-181.1.

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u celini (M63):

25. Dinulović D., **Stojaković S.**, Jovanić P., Analiza potencijala regeneracije akceptora štetnih materija, „Zbornik radova II-og simpozijuma “Reciklažne tehnologije i održivi razvoj“,ed. Rodoljub Stanojlović i Zoran Štirbanović, Soko Banja-Beograd, 07-10. Oktobar 2007, str. 300-306, ISBN: 987-86-80987-53-8.

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu (M64):

26. Nikolić B., Dodig D., Jovanović V., **Đurović S.**, Oro V., Milićević Z., The effect of diurnal changes of temperature and light (PAR) on the induction of Chla fluorescence in situ, in *Proceedings of abstracts of 19th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society*, ed. Serbian Plant Physiology Society and Institute for Biological Research „Siniša Stanković“, University of Belgrade, Banja Vrujci 13-15 June 2011, pp. 93, ISBN: 978-86-912591-1-2.
27. Nikolić B., **Đurović S.**, Milićević Z., Waisi H., Jovanović V., Inhibicija rastenja i fotosinteze kukuruza fosfonatnim herbicidom sulfosatom u uslovima zasenjenog lisnog

pokrova, *Zbornik rezimea radova XIV-tog Simpozijuma o zaštiti bilja i IX Kongresa o korovima*, izd. Društvo za zaštitu bilja Srbije i Herbološko društvo Srbije, Zlatibor 28-30 Novembar 2012, str. 174-175, ISBN: 978-86-83017-23-2.

28. Nikolić B., Waisi H., Dragičević V., Marisavljević D., Pavlović D., Jovanović V., **Đurović S.**, The effect of different light and nitrogen growth regimes on brassinosteroid activity in maize plants, in *Proceedings of abstracts of 20th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society*, ed. Serbian Plant Physiology Society and Institute for Biological Research „Siniša Stanković“, University of Belgrade, Subotica, 2013, pp. 49-50, ISBN: 978-86-912591-2-9.
29. Waisi H., Dragičević V., Nikolić B., Đukanović L., Živanović M., Jovanović V., **Đurović S.**, Preliminary observation of the effect of different concentration of 24-epibrassinolide on germination of seeds of two maize hybrids, in *Proceedings of abstracts of 20th Symposium of the Serbian Plant Physiology Society*, ed. Serbian Plant Physiology Society and Institute for Biological Research „Siniša Stanković“, University of Belgrade, Subotica, 2013, pp. 33, ISBN: 978-86-912591-2-9.

1.2. Ocena podobnosti kandidata za rad na predloženoj temi

Na osnovu dosadašnjeg rada i rezultata ostvarenih tokom posle diplomskih studija, i u okviru naučno-istraživačkog rada na gore navedenim projektima Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, Sanja Đurović dipl.inž. pokazala je interes, sklonost i sposobnost za bavljenje naučno-istraživačkim radom. To se ogleda u samostalnom kreiranju i realizaciji istraživanja vezanih za temu doktorske disertacije, kao i u radu u drugim oblastima istraživanja zastupljenim na Institutu za zaštitu bilja i životnu sredinu. Iz oblasti istraživanja, iz koje se predlaže tema doktorske disertacije, do sada je objavila jedan naučni rad štampan u vodećem časopisu nacionalnog značaja, kao i više saopštenja na međunarodnim i nacionalnim skupovima dok su dva rada u međunarodnom časopisu u pripremi. Kandidat poseduje i odlično znanje engleskog jezika.

Na osnovu iznetih podataka može se zaključiti da Sanja Đurović, dipl.inž. ispunjava sve potrebne uslove za rad na predloženoj temi doktorske disertacije.

2. Predmet i cilj istraživanja

Predmet naučnog istraživanja u okviru predložene teme ove doktorske disertacije je, razvoj i optimizacija postupka ekstrakcije polifenolnih kiselina i proteina iz samlevenog zrna žute soje (od biljaka soje različitih genotipova, izlaganih različitim agrotehničkim praksama tokom gajenja), kao i određivanje profila polifenolnih kiselina i antioksidativne aktivnosti tako pripremljenih ekstrakata. Polifenoli čine jednu od najvećih, najrasprostranjenijih i biološki (fiziološki i medicinski) najznačajnijih grupa proizvoda sekundarnog metabolizma biljaka. Fenolna jedinjenja su poznata kao antioksidansi, i kao takvi imaju sposobnost neutralisanja slobodnih radikala, grupe jedinjenja sa veoma štetnim dejstvom po sve žive organizme. Slobodni radikali su veoma reaktivni i imaju sposobnost oksidacije biomolekula, što dovodi do povratnih i nepovratnih oštećenja ćelija i patoloških promena na tkivima. Prisustvo antioksidanasa u hrani i suplementima pomaže organizmu da smanji oksidativni stres. Antioksidansi različitim mehanizmima delovanja sprečavaju stvaranje slobodnih radikala, blokiraju razgradnju peroksida i hidroperoksida (kao produkata dejstva primarnih slobodnih radikala) ili vrše vezivanje metala (kao inicijatora stvaranja slobodnih radikala) u helatne komplekse. Polifenolnim jedinjenjima se, pored antioksidativnog, pripisuje

antiinflamatorno, antibakterijsko, antifungicidno i antitumorsko dejstvo, tako da imaju veliki značaj, kako u ishrani, tako i u medicini, ulazeći u sastav nekih lekova.

Ekstrakcija bioaktivnih jedinjenja iz biljnih materijala je prvi korak u upotrebi fitohemikalija kao dodataka u proizvodnji dijetetskih suplemenata, sastojaka hrane, farmaceutskih i kozmetičkih proizvoda. Prinos ekstrakcije zavisi od vrste rastvarača različitih polariteta, vremena ekstrakcije i temperature, odnosa uzorak-rastvarač kao i hemijskog sastava i fizičkih karakteristika uzoraka. Biljni materijal može sadržati niz fenolnih jedinjenja koja variraju od jednostavnih (npr. fenolne kiseline, antocijani) do visoko polimerizovanih supstanci (npr. tanini) u različitim količinama. Zbog svega navedenog ne postoji univerzalni postupak ekstrakcije pogodan za ekstrakciju svih biljnih fenola. U okviru planirane disertacije biće ispitan uticaj pripreme (tretmana) uzorka u ultrazvučnom kupatilu, korišćenjem ultrazvučne sonde različitih frekvencija, kao i korišćenjem mikrotalasa na brzinu i prinos ekstrakcije, ali i enzimskih pretretmana pomoću različitih hidrolitičkih enzima koji razlažu komponente ćelijskog zida i na taj način, mogu povećati prinos ovih jedinjenja u ekstraktima.

Obzirom na kompleksnost biljnog materijala, priprema uzorka može uključivati baznu, kiselinsku ili enzimsku hidrolizu da bi se oslobodili vezani fenoli i omogućila njihova ekstrakcija, a potom i kvantifikacija iz biljnog materijala, što će biti testirano kao pretretman.

Bazna i kiselinska hidroliza su najčešći načini oslobađanja fenolnih jedinjenja iz uzorka. Tretman kiselinom razbija glikozidne veze polimera i oslobađa jednostavne šećere, ali generalno ostavlja estarske veze u tako produkovanim šećerima intaktne. S druge strane, kiselinska hidroliza na povišenim temperaturama rezultira gubitkom nekih fenola. Baznom hidrolizom se efikasnije oslobađaju fenolna jedinjenja i smanjuje njihov gubitak, nego u uslovima kiselinske hidrolize. Bazna hidroliza raskida estarske veze kojima su fenolne kiseline vezane za polisaharide ćelijskog zida i predstavlja efikasan način da se oslobode fenolna jedinjenja iz tih polisaharida. Iako široko rasprostranjena, ova metoda ima niz nedostataka, vezanih za ekstremne uslove pH vrednosti, dug vremenski period (i do 24 h) i sl.

Enzimaska hidroliza je mnogo specifičniji i efikasniji način da se oslobode vezana fenolna jedinjenja (zahvaljujući velikoj specifičnosti i aktivnosti enzima), pod blagim procesnim uslovima. Enzimi koji hidrolizuju ugljene hidrate, kao što su pektinaze, celulaze, amilaze, hemicelulaze i glukanaže se uspešno koriste za oslobađanje polifenola. Ovi enzimi igraju ulogu u razaranju matriksa ćelijskog zida biljaka i stoga olakšavaju ekstrakciju polifenola. U ovom radu biće ispitana efikasnost klasične bazne i kiselinske hidrolize, kao i enzimске hidrolize (koristeći enzime proteaze, pektinaze, hemicelulaze i celulaze kao i njihove komplekse) na efikasnost i prinos ekstrakcije.

Obzirom da je soja pre svega proteinska biljka (glavna karakteristika sojinog zrna i ono što soju izdvaja od ostalih mahunarki je visok sadržaj visokovrednih proteina, 42% prosečnog sadržaja), u ovom radu biće ispitan i sadržaj i biološka svojstva proteina iz ekstrakata dobijenih različitim postupcima hidrolize i ekstrakcije iz samlevenog zrna. Sa nutritivnog stanovišta, pravilnim kombinovanjem različitih namirnica, biljni proteini mogu da obezbede potrebne količine esencijalnih aminokiselina neophodnih za normalnu funkciju ljudskog organizma. Osim njihove uloge kao nutritiva, proteini igraju značajnu ulogu u strukturnom formiranju hrane putem procesa kao što su emulzifikacija, stvaranje pene, geliranje i formiranje testa. Zrno soje, kao i nusproizvodi prilikom proizvodnje ulja su veoma pogodni izvori proteina za proizvodnju proteinskih hidrolizata koji se uglavnom koriste kao dodaci hrani ili piću.

U skladu sa predmetom disertacije naučni ciljevi su sledeći:

1. Optimizacija postupka ekstrakcije (ekstrakcija ultrazvukom srednjeg intenziteta frekvence 16-100 kHz, ekstrakcija mikrotalasima) proteina i polifenola iz samlevenog zrna soje različitih genotipova i načina produkcije;

2. Optimizacija postupka hidrolize (klasična kiselinsko-bazna hidroliza i hidroliza potpomognuta hidrolitičkim enzimima proteazama, celulazama, hemicelulazama, pektinazama i njihovim kompleksnim smešama);
3. Optimizacija HPLC metode (mobilna faza, gradijentni režim iste) za simultanu detekciju i kvantifikaciju (uz izradu profila polifenolnih jedinjenja) polifenolnih jedinjenja u različitim sortama soje;
4. Određivanje promene sadržaja ukupnih i pojedinačnih polifenolnih jedinjenja u zavisnosti od genotipa soje, načina produkcije istih i praćenje antioksidativne aktivnosti zrna soje;
5. Određivanje količine sirovih (nativnih) proteina, kao i mogućnosti dobijanja hidrolizata proteina soje kontrolisanog stepena hidrolize i poboljšanih tehničko-funkcionalnih i bioloških svojstava.

U poslednjih nekoliko decenija publikovan je niz radova koji se bave različitim metodama hidrolize biljnog materijala i ekstrakcije proteina i polifenola iz istog, među kojima ističemo one koji su povezani sa tematikom ove teze i koji predstavljaju polaznu osnovu za dalja istraživanja:

Xu B., Chang S.K.C., Antioxidant capacity of seed coat, dehulled bean, and whole black soybeans in relation to their distributions of total phenolics, phenolic acids, anthocyanins, and isoflavones. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56:8365–8373

Taie H.A.A., El-Mergawi R., Radwan S., Isoflavonoids, flavonoids, phenolic acids profiles and antioxidant activity of soybean seeds as affected by organic and bioorganic fertilization. *Am-Eurasian J. Ag. Env. Sci.*, 2008, 4: 207-213.53]

Sagara, M., Kanda, T., NJelekera, M., Teramoto, T., Armitage, L., Birt, N., Birt, C. & Yamori, Y., Effects of Dietary Intake of Soy Protein and Isoflavones on Cardiovascular Disease Risk Factors in High Risk, Middle-Aged Men in Scotland, *Journal of the American College of Nutrition*, 2004, pages 85-91, DOI:10.1080/07315724.2004.10719347

Shahidi, F., & Naczki, M., Phenolic in food and nutraceutical, *Boca Raton, FL: CRC Press*, 2004, pp. 1–558.

Dai, J. and Mumper, R. J., Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties, *Molecules*, 2010, 15, 7313-7352.

Reis Giada de Lourdes, M., Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power. *Book edited by José A. Morales-González*, 2013, ISBN 978-953-51-1123-8, Published: May 22, 2013 <http://dx.doi.org/10.5772/51687>

Ross K.A., Beta, T., and Arntfield, S.D.; A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods, *Food Chemistry*, 2009, ISSN 0308-8146.

- O'Sullivan J., Murray B., Flynn C., Norton I., The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of animal and vegetable proteins, *Food Hydrocolloid* , 2016, 53 pp 141-154, ISSN 0268-005X.
- Morales R., Martínez K.D., Pizones Ruiz-Henestrosa V.M., Pilosof A.M.R., Modification of foaming properties of soy protein isolate by high ultrasound intensity: Particle size effect, *Ultrason. Sonochem.*, 2015, 26 pp 48-55 ISSN 1350-4177.
- Adler-Nissen J., Enzymatic Hydrolysis of Food Proteins. London and New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1989, p 427.
- Robbins R.J., Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003 51(10), 2866-2887.
- Cho, K. M., Ha, T. J., Lee, Y. B., Seo, W. D., Kim, J.Y., Ryu, H. W., Jeong, S.H., Kang, Y. M., Lee J.H.: Soluble phenolics and antioxidant properties of soybean (*Glycine max* L.) cultivars with varying seed coat colours, *Journal of functional foods*, 2013, 1065-1076
- Agbor, A. G., Vinson, A .J.and Donnelly, E. P. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *Int. J. Food Sci. Nutr. Diet.*,2014, 3(8), 147-156.
- Elkhalil E.A.J., Tinay A.H., Mohamed B.E., Elshseikh E.A.E., Effect of malt pretreatment on phytic acid and in vitro protein digestibility of sorghum flour. *Food Chem.* 2001, 72:29–32. doi: 10.1016/S0308-8146(00)00195-3.

3. Polazne hipoteze

Činjenica da se u poslednjih nekoliko decenija kod ljudi sve više razvija svest o konzumiranju hrane bez aditiva, kao i o potrebi za zamenom sintetskih antioksidanasa (u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji) prirodnim antioksidansima, predstavlja jednu od polaznih hipoteza u izradi ovog rada. Od sintetskih antioksidanasa u praksi najviše su korišćena jedinjenja: BHA (smeša izomera 2-terc-butil-4-hidroksianizola i 3-terc-butil-4-hidroksianizola) i BHT (2,6-di-terc-butil-4-metilfenol). Zabrana njihove upotrebe u nekoliko zemalja zbog neželjenih dugoročnih toksikoloških efekata, uključujući mutagene, kancerogene i teratogene efekte dovela je do potrebe za pronalaskom adekvatne zamene u vidu prirodnih antioksidanasa. Većina prirodnih antioksidanasa su fenolna jedinjenja tj. polifenoli, a najvažnije grupe prirodnih antioksidanasa su tokoferoli, flavonoidi i fenolne kiseline.

Obzirom da je soja, a naročito nusproizvodi pri proizvodnji sojinog ulja, veoma dobar, a nedovoljno iskorišćen izvor polifenola, ovde će biti ispitani različiti postupci ekstrakcije polifenola i proteina iz samlevenog zrna žute soje. Kako su polifenolna jedinjenja u biljnom materijalu najčešće vezana za druge biljne komponente, kao što su ugljeni hidrati i proteini, potrebno je, u cilju povećanja prinosa, izvršiti hidrolizu biljnog materijala pre samog postupka ekstrakcije. Prema literaturnim podacima seme soje sadrži svega nešto manje od 15% slobodnih polifenola, a preko 80% je vezano u strukturi ćelijskog zida ili za gore pomenute komponente, pa će se u ovom radu testirati nekoliko različitih načina hidrolize biljnog materijala radi oslobađanja vezanih polifenola. Najčešće korišćene metode kiselinske i bazne hidrolize, iako su veoma rasprostranjene, imaju niz nedostataka (ekstremni uslovi pH vrednosti, visoke temperature, dug vremenski period) koji mogu dovesti do gubitaka i smanjene antioksidativne aktivnosti tako dobijenih ekstrakata. Pod pretpostavkom da različiti hidrolitički enzimi (proteaze, celulaze, hemicelulaze, glukanaze, pektinaze i njihove smeše) zbog visokog

stepena selektivnosti i aktivnosti pri blagim reakcionim uslovima mogu dovesti do prevazilaženja nedostaka klasičnih metoda hidrolize, biće testirana i enzimska hidroliza uzoraka, kao pretretman ekstrakciji polifenola. Pretpostavka je da će navedeni enzimi, koji razaraju komponente ćelijskog zida, na taj način omogućiti veće izdvajanje proteina, naročito iz ćelija koje nisu razorene pri mehaničkom tretiranju. Mehanizam delovanja enzima se ogleda u tome da se povećava propustljivost membrane kroz koju se obavlja difuzija molekula i unapređuje prenos mase, što dovodi do povećanog oslobađanja proteina, a time i većeg prinosa. Pored toga, može doći i do delimične, kontrolisane razgradnje rastvornih ugljenih hidrata do oligosaharida, što povećava njihovu difuzivnost i olakšava izdvajanje, a može se specifično delovati i na same antinutritivne faktore bez termičkog tretmana.

U cilju optimizacije postupka ekstrakcije, pored različitih ekstrakcionih smeša, biće ispitan i uticaj različitih tehnika ekstrakcije: ultrazvučno kupatilo, ultrazvučna sonda (ultrazvuk srednjeg intenziteta frekvenci od 16 do 100 kHz) i ekstrakcija potpomognuta mikrotalasima. Na kraju će biti određena antioksidativna aktivnost tako dobijenih uzoraka.

Druga hipoteza polazi od činjenice da je soja pre svega proteinska biljka, sa prosečnim sadržajem visokovrednih proteina od oko 42%. Kako su nativni proteini znatno lošijih tehničko-funkcionalnih svojstava u odnosu na delimično hidrolizovane/modifikovane proteine (teža svarljivost, veća viskoznost, manja rastvorljivost u vodi, manja penivost, lošija emulgujuća svojstva, pa stoga i ograničena primena u prehrambenoj industriji), ovde će biti ispitana i mogućnost dobijanja hidrolizata proteina soje kontrolisanog stepena hidrolize, koji će istovremeno zadovoljiti više zahteva kao, na primer, zadržati odgovarajuća nutritivna svojstva uz smanjenu antinutritivnu aktivnost (Kunitz-tripsin inhibitorni protein semena soje) i poboljšana tehničko-funkcionalna svojstva. Isto tako, karakterističan neprijatan miris i jak ukus sojinih proteina na leguminoze, nedovoljan kapacitet vezivanja vode ili loša tekstura mogu se poboljšati u toku izolovanja.

Nove enzimске tehnologije zasnivaju se na kombinovanoj primeni tehnologije ultrazvuka visokog intenziteta i/ili proteolitičkih enzima umesto klasičnog termičkog postupka tretiranja supstrata. Polazeći od hipoteze da ultrazvuk značajno utiče na sekundarnu, tercijarnu i kvaternarnu strukturu proteina, od kojih je tercijarna izuzetno važna za funkcionalnost proteina, kao i da dovodi do povećanja hidrofobnosti površine i broja sulfhidrilnih grupa na površini molekula koje su odgovorne za veći broj disulfidnih mostova i formiranje manjih agregata nego pod uticajem toplote, objašnjava se zašto se pod kontrolisanim dejstvom ultrazvuka određenog intenziteta dobijaju rastvorljiviji proteini, veće konformacione pokretljivosti i dostupnosti proteazama. U tom smislu, tehnološki parametri pretretmana ultrazvukom na koje je neophodno obratiti pažnju su: frekvencija i jačina ultrazvučnih talasa, vrsta i konstrukcija uređaja za sonikaciju, vreme trajanja i režim samog pretretmana, prisustvo jonskih vrsta i rastvarača, što će biti ispitano u ovom radu.

4. Naučne metode istraživanja

Kao biljni materijal odabrane su tri sorte žute soje Nena, Laura i ZP015. U prvoj godini oglada zasejane su sorte Nena i ZP015 i tretirane sa po dva folijarna đubriva („SPEEDY“ i „Wuxal Extra CoMo“), a u drugoj godini sorta Laura tretirana je sa pet različitih folijarnih đubriva („Vegard“, „Eko-Fus“, „Calbit-C“, „Cropmax“ i „Cirkon“). Svi uzorci su nakon završene žetve (oktobar 2013. i septembar 2014. godine) i procene prinosa (uzorkovan deo prinosa sa parcela, potom aproksimiran na celu površinu parcele, posle čega je određivana srednja vrednost prinosa za tri parcele nekog tretmana), ručno očišćeni od zaostalih mahuna i nečistoća, samleveni i propušteni kroz laboratorijsko sito prečnika otvora 5 mm. Nakon toga uzorci su zamrznuti na -20°C i čuvani u zamrzivaču do analize. U svim polaznim uzorcima odrediće se sadržaj proteina, lipida, ukupnih ugljenih hidrata, pepela na osnovu AOAC standardnih metoda.

Pre ekstrakcije, seme će biti samleveno u laboratorijskom mlinu i dobijeno brašno, propušteno kroz laboratorijsko sito prečnika 5 mm, biće odmašćeno petrol etrom uvek na isti način, pri istom

odnosu uzorka prema petrol etru 1:10 (m/V). Odmašćivanje će se vršiti u Sokslet (Soxhlet) aparatu uvek u istom vremenskom periodu u trajanju od 4h.

Koncentracija ukupnih fenola biće određivana spektrofotometrijski upotrebom *Folin-Denis* i *Folin Ciocalteu* reagenasa i standarda galne kiseline, kao referentne za ukupne polifenole. Prvo će biti određena optimalna količina uzorka potrebna za analizu i optimalna ekstrakciona smeša za određivanje ukupnih fenola (biće ispitano šest različitih smeša organskih rastvarača sa promenljivim sadržajem vode (50% aceton, 70% aceton, smeša 70% aceton i 70% metanol u odnosu 1:1, 80% metanol, 80% etanol metanol sa 10% HCl u odnosu 85:15 %), a zatim i nađeno koji tip Folinovog reagensa daje bolje rezultate. Koncentracija ukupnih fenola biće izražena preko ekvivalenta galne kiseline po gramu definisanog uzorka (mg GAE / g uzorka).

Folin-Denis i *Folin Ciocalteu* reagensi mogu biti neprikladni za biljne ekstrakte sa visokim sadržajem drugih lako oksidujućih supstanci kao što su redukujući šećeri i askorbinska kiselina. Uprkos ovim ograničenjima, metoda je veoma jednostavna i najčešće korišćena metoda za procenu ukupnog sadržaja fenola u voću i povrću. U prilog korišćenju *Folin Ciocalteu* reagensa za kvantifikaciju polifenola u brašnu zrna soje ide i činjenica da zrno soje, kao rezervne materije sadrži pre svega proteine i skrob, pa onda ulja, a u vrlo malom obimu jednostavne disaharide i monosaharide (uključujući i vitamin C).

Određivanje antioksidativne aktivnosti ispitivanih jedinjenja vršiće se takođe spektrofotometrijskim metodama, koristeći iste ekstrakte pripremljene za analizu ukupnih fenola. Te metode zasnivaju se na spektrofotometrijskom praćenju promene koncentracije nekog od reaktanata ili produkata reakcije antioksidanasa sa slobodnim radikalima. DPPH metod, kao jedan od tih metoda, je jednostavan, brz i osetljiv način za ispitivanje antioksidativne aktivnosti određenog jedinjenja ili biljnog ekstrakta. Ovaj test pruža podatke o reaktivnosti potencijalnih antioksidanasa sa stabilnim, slobodnim 1,1-difenil-2-pikril-hidrazil radikalom (DPPH). Sam DPPH radikal je purpurne boje i ima maksimum apsorpcije na 517 nm. Rezultati će biti izraženi kao $\mu\text{mol TROLOX}$ ekvivalenta/mg definisanog biljnog materijala.

Određivanje ukupne redukcione sposobnosti vršiće se tzv. FRAP metodom zasnovanom na redukciji Gvožđe(III)-tripiridil-triazin kompleksa (Fe(III)-TPTZ) do Gvožđe(II)-tripiridil-triazin kompleksa. Redukovani gvožđe(II)-tripiridil-triazin kompleks poseduje intenzivno plavu boju, koja se određuje spektrofotometrijski na 593 nm. Rezultati će biti izraženi kao $\mu\text{mol Fe(II)/mg}$ definisanog biljnog materijala. Hidroliza vezanih polifenola, koja prethodi ekstrakciji vršiće se bazom, kiselinom i enzimima. Ekstrakcija pripremljenog supstrata vršiće se u ultrazvučnom kupatilu, pomoću ultrazvučne sonde frekvence 20 kHz i različite amplitude kao i pomoću mikrotalasa u uređaju koji omogućava kontrolu temperature tokom tretmana.

Nutritivna svojstva koja će se razmatrati u okviru projekta su, pored rastvorljivosti, digestivnost i aminokiselinski sastav. Digestivnost hidrolizata će se određivati *in vitro* testovima sa pepsinom u simuliranim gastrointestinalnim uslovima po neznatno izmenjenoj metodi opisanoj u literaturi (Elkhalil i sar., 2001). Amino-kiselinski sastav izolovanih proteina/peptida određivaće se metodom tečne hromatografije primenom aminokiselinskog analizatora.

Analiza polifenolnih kiselina iz pripremljenih ekstrakata vršiće se metodom reverzno-fazne tečne hromatografije visokih performansi (RP-HPLC), koja će se optimizovati modifikacijom reakcionih uslova (sastava mobilnih faza i gradijentnog režima istih), dok će potvrda identifikovanih polifenolnih jedinjenja biti izvršena metodom tečne hromatografije-masene spektrometrije (HPLC/MS/MS).

Sadržaj proteina u sirovom uzorku biće određen posredno, preko određivanja sadržaja azota metodom po Kjeldalu (Kjeldahl), a sadržaj i rastvorljivost proteina odrediće se standardnom spektrofotometrijskom metodom po Bradford-u i/ili Loriju. Razlike u strukturi proteina nakon tretmana ultrazvukom ili mikrotalasima u odnosu na one dobijene nakon termičkih tretmana odrediće se pomoću Ramanove, CD i FTIR spektroskopije. Ramanova spektroskopija odlično detektuje čak i veoma male promene u sekundarnoj strukturi proteina na osnovu promene intenziteta i položaja pikova, naročito u oblasti amida I ($1600\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$), amida II ($1510\text{--}1560\text{ cm}^{-1}$) i amida III ($1200\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$). U slučaju korišćenja FTIR-spektroskopije, potrebno je raditi u D_2O

zbog preklapanja pikova u oblasti amida I i intenzivnog vibracionog pika vode na 1640 cm^{-1} . Distribucija molekulske mase izolovanih proteina i peptida odrediće se pomoću gel-permeatne hromatografije na (Protein-Pak 60) (7.8 mm.i.d.×30 cm, 60 Å) koloni, kao i metodom SDS-PAGE elektroforeze koja će se izvoditi u jedinici za horizontalnu i vertikalnu elektroforezu. Pojedinačni peptidi u hidrolizatima biće razdvojeni reversno-faznom tečnom hromatografijom (RP-HPLC) na C18 koloni korišćenjem tečnog hromatografa.

5. Očekivani naučni doprinos

Očekujemo da će rezultati dobijeni u toku rada na ovoj doktorskoj disertaciji dati značajan naučni doprinos na polju razvijanja postupka ekstrakcije antioksidanasa iz semena soje korišćenjem savremenih tehnika za pretretman uzorka (ultrazvuk srednjeg intenziteta, mikrotalasi, enzimi), u cilju prevazilaženja nedostataka klasičnih metoda. U okviru istraživanja može se očekivati nekoliko osnovnih doprinosa, i to:

- Određivanje profila polifenolnih kiselina iz zrna različitih sorti soje, izloženih različitim folijarnim đubrivima i uzorkovanih u različitim vegetacionim sezonama;
- Nalaženje najpogodnije ekstrakcione smeše za izolovanje polifenola iz semena soje (koja se kasnije može primeniti i na ostale mahunarke);
- Nalaženje najpogodnije tehnike za poboljšanje ekstrakcije odgovarajućim pretretmanom semena soje;
- Utvrđivanje optimalnih tehnoloških parametara kao što su izbor jednog ili više enzima, odnos koncentracija različitih enzima, odnos sojino brašno/ekstrakciono sredstvo, temperatura i pH ekstrakcije, kao i vreme tretiranja u toku enzimski potpomognute ekstrakcije sa aspekta prinosa polifenola i njihove antioksidativne aktivnosti;
- Utvrđivanje optimalnih tehnoloških parametara enzimski potpomognute ekstrakcije sa aspekta prinosa i tehničko-funkcionalnih svojstava izolovanih proteina;
- Definisanje načina delovanja ultrazvuka i mikrotalasa na strukturu proteina soje na model proteinima glicininu (11S protein) i β konglicininu (7S protein) kao i njihove korelacije sa tehničko-funkcionalnim svojstvima;
- Biće detaljno objašnjen sinergistički efekat ultrazvučnog pretretmana i enzimske hidrolize, kao i njihov uticaj na poboljšanje funkcionalnih svojstava proteina soje, čime će biti dat značajan doprinos u razumevanju mehanizama njihovog kombinovanog delovanja na strukturu i denaturaciju proteina semena soje;
- Doći će se do novih saznanja o mogućnosti primene alternativnih postupaka za obradu proteina soje, nasuprot konvencionalnom termičkom tretmanu;
- Izvršiće se funkcionalna karakterizacija dobijenih proteinskih izolata semena soje sa aspekta krajnje primene.

6. Plan istraživanja i struktura rada

Predmet rada ove doktorske disertacije je optimizacija postupka ekstrakcije polifenola i proteina iz semena žute soje sa aspekta njihovog prinosa, antioksidativnih i tehničko-funkcionalnih svojstava. Pored pronalaženja najbolje ekstrakcione smeše ispitaće se i uticaj različitih pretretmana na količinu i antioksidativnu aktivnost izolovanih polifenola. Pored toga, uticaj različitih pretretmana i parametara ekstrakcije pratiće se i sa aspekta količine i tehničko-funkcionalnih svojstava izolovanih proteina. Izvršiće se i poređenje enzimske hidrolize, kao novijeg „zelenog postupka“ hidrolize u odnosu na konvencionalne postupke bazne i kiselinske hidrolize biljnog materijala.

Predviđa se da će u doktorskoj disertaciji biti obrađena sledeća poglavlja: *Uvod, Teorijski deo, Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Zaključak, Literatura*.

U poglavlju *Uvod* biće prikazan kratak osvrt na oblast istraživanja i definisani predmet istraživanja, kao i glavni ciljevi disertacije.

Poglavljje *Teorijski deo* obuhvatiće pregled dosadašnjih istraživanja koji se odnose na:

- Značaj i ulogu soje u ishrani ljudi i životinja, sa datim pregledom njenih nutritivnih osobina;
- Značaj polifenola posmatran kroz njihova fiziološka svojstva;
- Značaj proteina i proteinskih izolata kroz njihova tehničko-funkcionalna svojstva;
- Načine ekstrakcije polifenola iz biljnog materijala (uticaj reakcionih faktora);
- Metode hidrolize biljnog materijala u cilju što efikasnije ekstrakcije polifenola i proteina;
- Detekciju izolovanih komponenata (uticaj reakcionih uslova).

U *Eksperimentalnom delu* biće navedeni materijali i metode primenjeni u eksperimentalnom radu:

- Materijali
- Instrumenti
- Metode.

U poglavlju *Rezultati i diskusija* biće prikazani i diskutovani dobijeni rezultati. Ovo poglavljje sadrži prikaz i diskusiju sledećih eksperimenata:

- Profil polifenolnih kiselina iz samlevenog obezmašćenog zrna tri sorte žute soje Nena, Laura i ZP015 izloženih različitim folijarnim đubrivima i uzorkovanih u različitim vegetacionim sezonama;
- Uticaj različitih parametara i vrste rastvarača (smeše rastvarača) na ekstrakciju polifenola i proteina;
- Uticaj pretretmana uzorka soje ultrazvukom i mikrotalsima na sadržaj i antioksidativnu aktivnost polifenola kao i na tehničko-funkcionalna svojstva izolovanih proteina;
- Uticaj kombinovanih pretretmana ultrazvukom i enzimima na prinos i antioksidativna svojstva izolovanih polifenola;
- Poređenje i uspostavljanje korelacije između sadržaja ukupnih polifenola, profila pojedinačnih polifenolnih kiselina i antioksidativne aktivnosti različito pripremljenih uzoraka
- Uticaj parametara ultrazvučnog pretretmana u kontrolisanim temperaturnim uslovima na strukturu i tehničko-funkcionalna svojstva izolovanih proteina soja;
- Veza između promena u strukturi molekula model proteina soja izazvanih ultrazvukom i njihove funkcionalnosti;
- Uticaj kombinovanih pretretmana ultrazvukom i enzimima na prinos i tehničko-funkcionalna svojstva proteinskih izolata soja.

U *Zaključku* će biti sumirani dobijeni rezultati i izvedeni zaključci na osnovu upoređivanja sa literaturnim podacima.

U delu *Literatura* biće navedene reference citirane u disertaciji, uključujući i naučne publikacije proistekle iz istraživanja u okviru ovde disertacije.

7. Zaključak i predlog

Na osnovu iznetog, Komisija smatra da je tema predložene doktorske disertacije kandidata Sanje Đurović pod nazivom „Uticaj različitih postupaka ekstrakcije na sadržaj i biološka svojstva polifenola i proteina iz semena žute soje različitog porekla“ naučno zasnovana i predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko–metalurškog fakulteta da je prihvati. Komisija, takođe, predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko–metalurškog fakulteta da Referat o podobnosti teme i kandidata uputi na davanje saglasnosti Veću naučnih oblasti tehničkih nauka, Univerziteta u Beogradu. Za mentora se predlaže prof. dr Zorica Knežević-Jugović, redovni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnoj oblasti Tehnološko inženjerstvo, uža naučna oblast Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija, za koju je Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu matična ustanova.

U Beogradu, 07.02.2017. godine

ČLANOVI KOMISIJE

Komisija:

Dr Zorica Knežević-Jugović, redovni profesor
Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Bogdan Nikolić, viši naučni saradnik
Institut za zaštitu bilja i životnu sredinu, Beograd

Dr Dušan Mijin, redovni profesor
Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Dejan Bezbradica, vanredni profesor
Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet