

ТЕХНОЛОШКО-МЕТАЛУРШКИ
ФАКУЛТЕТ
35/253
(Број захтева)

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

17.08.2017.
(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:

„Функционална својства и примена хидролизата протеина сурутке добијених биотехнолошким путем (Functional properties and possibility of application of whey protein hydrolysates obtained by biotechnological processing)“
(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ: ТЕХНОЛОШКО ИНЖЕЊЕРСТВО

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

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

SALEM (Mohamed) EMBIRIEKAN, мастер инжењер

2. Назив и седиште факултета на коме је стекао високо образовање: **Решењем ректора Универзитета у Београду број 06-61302-5994/5-13 од 02.07.2014. године студенту је призната високошколска исправа другог нивоа високог образовања стечена на Универзитету у Мисурати, Либија, издата 03.06.2014. године, чиме је стекао право уписа на докторске академске студије, студијски програм Биохемијско инжењерство и биотехнологија.**

3. Година дипломирања: /

4. Назив и седиште факултета на коме је стекао мастер образовање: /

5. Година одбране мастер рада: /

Обавештавамо Вас да је **Наставно-научно веће**, на седници одржаној **06.07.2017. године** размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације.

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.

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 06.07.2017. 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 Salem Mohamed Embiriekah, мастер инж., под називом: **„Функционална својства и примена хидролизата протеина сурутке добијених биотехнолошким путем (Functional properties and possibility of application of whey protein hydrolysates obtained by biotechnological processing)“**

Одобрава се студенту израда и одбрана докторске дисертације на енглеском језику.

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

За ментора се одређује: др Марица Ракин, 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 **Salem Mohamed Embiriekah**

Име и презиме ментора: Марица Ракин

Звање: редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Rakin M., Vukasinovic M., Siler-Marinkovic S. and Maksimovic M., Contribution on lactic acid fermentation on improved nutritive quality vegetables juices enriched with brewer's yeast autolysate, *Food Chemistry*, 100(2), 2007, 599-602. ISSN: 0308-8146, IF(2007)=3,052.
2. Mojović Lj., Nikolić S., Rakin M. and Vukasinović M., Production of bioethanol from corn meal hydrolyzates, *Fuel*, 85(12-13), 2006, 1750-1755. ISSN:0016-2361, IF(2007)=3,179.
3. Djukić-Vuković, A.P., Mojović, L.V., Vukašinović-Sekulić, M.S., Rakin, M.B., Nikolić, S.B., Pejin, J.D., Bulatović, M.L. Effect of different fermentation parameters on l-lactic acid production from liquid distillery stillage *Food Chemistry* 134 (2) , 2012, pp. 1038-1043. ISSN: 0308-8146, IF(2012)=4.072.
4. Maja Lj. Bulatović, Marica B. Rakin, Maja S. Vukašinović-Sekulić, Ljiljana V. Mojović, Tanja Ž. Krunic, Effect of nutrient supplements on growth and viability of *Lactobacillus johnsonii* NRRL B-2178 in whey, *International Dairy Journal*, 34 (1), 2014, pp. 109-115. ISSN: 0958-6946 , IF (2014)= 2.433.
5. Maja Lj. Bulatović, Tanja Ž. Krunic, Maja S. Vukašinović-Sekulić, Danica B. Zarić, Marica B. Rakin, Quality attributes of a fermented whey-based beverage enriched with milk and a probiotic strain, *RSC Advances*, 4 (98), 2014,55503–55510. ISSN 2046-2069, IF (2014) = 3.840.

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 М11, М12, М13, М14, М41 и М51.)

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: 29.06.2017.

М.П.

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

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

Predmet: Podobnost teme i kandidata Salem Mohamed Embiriekah, master inženjera, za izradu doktorske disertacije

Odlukom Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu br. 35/22 od 23.02.2017. godine, imenovani smo za članove Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata Salem Mohamed Embiriekah, master inženjera, za izradu doktorske disertacije i naučne zasnovanosti teme:

**Funkcionalna svojstva i primena hidrolizata proteina surutke dobijenih biotehnološkim putem
(Functional properties and possibility of application of whey protein hydrolysates obtained by biotechnological processing)**

Na osnovu materijala priloženog uz Zahtev kandidata, Komisija podnosi sledeći

IZVEŠTAJ

1. Podaci o kandidatu

1.1. Biografija kandidata

SALEM MOHAMED EMBIRIEKAH rođen je 25.05.1972. godine u Idždabiji, Libija. 1995. godine na University of Misrata završio je Faculty of Science, specijalizacija Hemija. Master studije završio je 2009. godine na Univerzitetu u Misrati, College of Science. U periodu 2009-2012 bio je predavač za predmet Analitička hemija na Faculty of Science. Univerzitet u Beogradu sproveo je postupak priznavanja i vrednovanja studijskog programa i izvršio nostrifikaciju 03.06.2014. godine i izdao ispravu na ime Salem Mohamed Embiriekah za drugi nivo visokog obrazovanja stečenog na Univerzitetu u Misurati, Libija.

Salem Embiriekah je u periodu 2011-2013 izvodio je teorijsku i praktičnu nastavu iz predmeta Biohemija i Organska hemija na Faculty of Education u Libiji. Doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju upisao je 2012/13. godine. i položio sve predviđene ispite planom i programom sa prosečnom ocenom 9.58.

Govori čita i piše engleski jezik.

Položeni ispiti i ostvareni bodovi u toku doktorskih studija

1. Odabrana poglavlja biohemije - Vitamini
2. Hemijska kinetika

ESPB	Ocena
5	10
5	6

3. Industrijska mikrobiologija	5	10
4. Biohemijska kinetika	5	10
5. Biomasa kao izvor energije	4	10
6. Odabrani mikrobiološki procesi u zaštiti životne sredine	4	10
7. Sanitarna mikrobiologija	4	10
8. Fizičko-hemijske osnove farmaceutskog inženjerstva	4	10
9. Odabrana poglavlja numeričke analize	5	9
10. Metoda konačnih elemenata u inženjerstvu materijala	4	10
11. Odabrana poglavlja projektovanja procesa u biohemijskom inženjerstvu	5	10
12. Završni ispit - pristupni rad za izradu doktorske disertacije	30	10
Ukupno ESPB	80	
Prosečna ocena		9.58

1.2. Stečeno naučno-istraživačko iskustvo

Iz rezultata dosadašnjeg naučno-istraživačkog rada kandidata na predloženoj temi doktorske disertacije proizašla su 2 (dva) rada objavljena u časopisima međunarodnog značaja, od kojih je **1** (jedan) rad štampan u istaknutom međunarodnom časopisu (**M22**) i **1** (jedan) rad objavljen u zborniku skupa međunarodnog značaja štampan u celini (**M33**).

Objavljeni naučni i stručni radovi i saopštenja:

M20. Radovi objavljeni u časopisima međunarodnog značaja

Radovi objavljeni u istaknutom međunarodnom časopisu (M22)

1. **Salem Embiriekah**, Maja Bulatović, Milka Borić, Danica Zarić and Marica Rakin Antioxidant activity, functional properties and bioaccessibility of whey protein hydrolysates, International Journal of Dairy Technology, DOI: 10.1111/1471-0307.12428

M30. Radovi objavljeni u zbornicima međunarodnih skupova

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini (M33)

1. **Salem Embiriekah**, Maja Bulatović, Milka Borić, Danica Zarić, Slavica Arsić, Marica Rakin (2016). Selection of *Lactobacillus* strains for improvement of antioxidant activity of different soy, whey and milk protein substrates, *Journal of Hygienic Engineering and Design*, Vol 16, pp 64-69, 2016, Ohrid, Macedonia, (ISSN 1857-8489)

1.3. Ocena podobnosti kandidata za rad na predloženoj temi

Na osnovu dosadašnjeg rada i pokazanih rezultata tokom poslediplomskih studija i u okviru naučno-istraživačkog rada, Salem Mohamed Embiriekah, master inženjer, pokazao je interes, sklonost i sposobnost za bavljenje naučno-istraživačkim radom. Posebno je pokazao

veliku sklonost za kreiranje novih inovativno unapređenih prehrambenih proizvoda. Tema doktorske disertacije pripada oblasti iz koje je kandidat do sada objavio dva naučna rada međunarodnog značaja. Na osnovu dosadašnje saradnje sa kandidatom kao i objavljenih naučnih radova, Komisija smatra da kandidat ispunjava sve potrebne uslove za rad na predloženoj temi.

2. Obrazloženje teme

2.1. Predmet i cilj istraživanja

Predmet istraživanja sprovedenih u okviru ove doktorske disertacije odnosi se na primenu različitih biotehnoloških procesa u proizvodnji hidrolizata proteina surutke širokog spektra bioaktivnosti koji kao takvi mogu naći primenu u različitim prehrambenim proizvodima. Osnovni ciljevi ove doktorske disertacije su optimizacija procesa proizvodnje biotehnološki modificovanih proteina surutke (bioaktivnih peptida) visoke antioksidativne aktivnosti, unapređenih tehnoloških i funkcionalnih svojstava, kao i ispitivanje mogućnosti njihove primena u prehrambenoj industriji.

Surutka koja nastaje u procesima proizvodnje sira i kazeina predstavlja glavni sporedni proizvod industrije mleka koji spada u jedan od najslabije iskorišćenih sporednih proizvoda prehrambene industrije u Srbiji [1]. Osnovni problem industrije mleka je što se svega 10–20% mleka iskoristi za dobijanje sira ili kazeina, dok 80–90% mleka otpada na surutku [2]. Usled neiskorišćavanja, surutka postaje veoma veliki zagađivač, što je u potpunosti u neskladu sa potencijalima koje kao sirovina poseduje. Svetska proizvodnja surutke iznosi preko 100 miliona tona godišnje, a samo u Evropskoj Uniji (EU) proizvedeno je 1997. godine oko 50% od ove količine [3]. Na osnovu podataka o proizvodnji sira projektovanim do 2019. godine, proizilazi da će svetska proizvodnja surutke do kraja 2019. godine beležiti stalni rast od oko 2% godišnje [4]. I pored svog velikog potencijala, danas se svega 50% otpadne surutke biva iskorišćeno u prehrambenoj i industriji vrenja, dok se ostatak ispušta u vodotokove bez prethodne obrade. Ispuštanje surutke u vodotokove sa jedne strane predstavlja neoprostiv gubitak nutritivno vredne sirovine, a sa druge strane prouzrokuje velike ekološke probleme s obzirom na visoke vrednosti HPK (hemijska potrošnja kiseonika) i BPK₅ (biološka potrošnja kiseonika tokom 5 dana). Jedno od efikasnijih rešenja vezanih za iskorišćavanje surutke jeste hidroliza proteina surutke u cilju proizvodnje bioaktivnih jedinjenja koja ispoljavaju veliki potencijal za primenu u različitim prehrambenim proizvodima. [1].

Sa druge strane, savremeni tempo i način života, kao i sve zagađenije životno okruženje nameću potrebu proizvodnje unapređenih prehrambenih proizvoda koji bi pomogli ljudskom organizmu u borbi protiv štetnih agenasa kojima je svakodnevno izložen. Povećani zahtevi potrošača za zdravijim, prirodnijim i ukusnijim prehrambenim proizvodima iziskuju neodložan razvoj prehrambene industrije u cilju proizvodnje novih funkcionalnih dodataka hrani. Primenom funkcionalnih dodataka ostvarilo bi se povećanje nutritivne vrednosti, senzornog kvaliteta i tehnoloških svojstava prehrambenih proizvoda. Proteini surutke predstavljaju često korišćen suplement u proizvodnji široke palete prehrambenih proizvoda. U nutritivnom smislu proteini surutke predstavljaju izvor esencijalnih aminokiselina neophodnih za rast i razvoj. Enzimskim ili mikrobiološkim tretmanom [4-8] proteina surutke može se ostvariti njihova modifikacija i proizvesti peptidi koji u funkcionalnom i tehnološkom smislu mogu u značajnoj meri unaprediti svojstva prehrambenih proizvoda.

Zbog unutrašnjih fizičkih i hemijskih karakteristika, kao što su sekvenca, veličina, struktura, njihova međusobna interakcija i interakcija sa drugim molekulima, peptidi su sposobni da formiraju sopstvenu strukturu ili agregate, čime mogu da razviju nova funkcionalna svojstva. Dakle, peptidi u hrani značajno doprinose finalnoj teksturi proizvoda, organoleptičkim svojstvima i ispoljavaju specifične bioaktivnosti kojima se može poboljšati zdravlje potrošača [9-14]. Peptidi mogu povećati emulgujuća svojstva i svojstva stvaranja pene, poboljšati rastvorljivost, stabilizovati proizvod, smanjiti alergenost i ispoljiti specifične bioaktivnosti.

U okviru ove doktorske disertacije izvršiće se optimizacija procesa proizvodnja bioaktivnih peptida surutke. Proizvodnja peptida može se izvesti na dva načina: enzimskom hidrolizom i fermentacijom pomoću mikroorganizama. Istraživanja će obuhvatiti identifikaciju sojeva bakterije mlečne kiseline (koje poseduju izraženu proteolitičku aktivnost) i odgovarajućih enzima za proizvodnju bioaktivnih peptida kao i određivanje optimalnih uslova izvođenja procesa proizvodnje (enzimskog i mikrobiloškog). U cilju odabira peptida značajno unapređenih karakteristika ispitaće se njihova antioksidativna, antimikrobna, antiinflamatorna, antireumatska aktivnost, sposobnost inhibicije autooksidacije masnih kiselina (na modelu oleinske kiseline) kao i citotoksičnost. Takođe će se ispitati tehnološke karakteristike (emulgujuća svojstva, svojstvo stvaranja pene, digestibilnost i bioraspoloživost) proizvedenih peptida kao i stabilnost njihove bioaktivnosti u simuliranim gastrointestinalnim uslovima. U zavisnosti od ispoljene bioaktivnosti, odabraće se peptidi najboljih karakteristika i izvršiće se njihovo inkorporiranje u konditorske proizvode (na modelu mlečnog masnog krema kao punjenja za široku paletu konditorskih proizvoda). Nakon detaljne senzorne analize proizvoda, kao i nakon analize karakterističnih tehnoloških parametara kvaliteta biće izvršeno inkorporiranje bioaktivnih peptida, u količini koja bi ispoljila funkcionalno dejstvo nakon čega će se pratiti uticaj dodatka peptida na strukturu prehrambenog proizvoda kao i na stabilnost obogaćenog proizvoda.

Ovde su navedeni samo neki radovi koji su vezani za proizvodnju hidrolizata proteina surutke izraženog bioaktivnog potencijala:

- [1] Maja Lj. Bulatović, Marica B. Rakin, Ljiljana V. Mojović, Svetlana B. Nikolić, Maja S. Vukašinović Sekulić, Aleksandra J. Djukić Vuković (2012) Surutka kao sirovina za proizvodnju funkcionalnih napitaka, *Hemijska industrija*, 66 (4), pp. 567-579
- [2] D. Stanzer, V. Stehlik-Tomas, V. Gulan Zetić, J. Manenica, Sirutka-alternativna sirovina za proizvodnju prehrambenog kvasca, *Mljekarstvo* 52 (2002) 113-124.
- [3] Salem Embiriekah, Maja Bulatović, Milka Borić, Danica Zarić and Marica Rakin Antioxidant activity, functional properties and bioaccessibility of whey protein hydrolysates, *International Journal of Dairy Technology*, DOI: 10.1111/1471-0307.12428
- [4] Chianese, L., S. Caira, P. Ferranti, P. Laezza, A. Malorni, G. Mucchetti, G. Garro, and F. Addeo. 1997. The oligopeptides of sweet and acid cheese whey. *Lait* 77:699–715.
- [5] Smacchi, E., and M. Gobbetti. 2000. Bioactive peptides in dairy products: synthesis and interaction with proteolytic enzymes. *Food Microbiol.* 17:129–141.
- [6] Gobbetti, M., L. Stepaniak, M. De Angelis, A. Corsetti, and R. Di Cagno. 2002. Latent bioactive peptides in milk proteins: Proteolytic activation and significance in dairy processing *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 42:223–239.
- [7] Algaron, F., G. Miranda, D. Le Bars, and V. Monnet. 2004. Milk fermentation by *Lactococcus lactis* with modified proteolytic systems to accumulate potentially bio-active peptides. *Lait* 84:115–123.
- [8] Salem Embiriekah, Maja Bulatović, Milka Borić, Danica Zarić, Slavica Arsić, Marica Rakin (2016). Selection of *Lactobacillus* strains for improvement of antioxidant activity of different

soy, whey and milk protein substrates, *Journal of Hygienic Engineering and Design*, Vol 16, pp 64-69, 2016, Ohrid, Macedonia, (ISSN 1857-8489)

[9] Gobbetti, M., F. Minervini, and C. G. Rizzello. 2004. Angiotensin Converting enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactive peptide. *Int. J. Dairy Technol.* 57:172–188.

[10] Diaz, M., Decker, E.A., 2004. Antioxidant mechanisms of caseinophosphopeptides and casein hydrosylates and their application in ground beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 8208–8213.

[11] Hernandez-Ledesma, B., Davalos, A., Bartolome, B., Amigo, L., 2005. Preparation of antioxidant enzymatic hydrosylates from α -lactalbumin and β -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC–MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 588–593.

[12] Kitts, D.D., Weiler, K., 2003. Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Current Pharmaceutical Design* 9, 1309–1323.

[13] Rival, S.G., Fornaroli, S., Boeriu, C.G., Wichers, H.J., 2001b. Caseins and casein hydrolisates 1. Lipoxygenase inhibitory properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 287–294.

[14] Suetsuna, K., Ukeda, H., Ochi, H., 2000. Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein. *Journal of Nutritional Biochemistry* 11, 128–131.

2.2. Polazne hipoteze

Surutka kao sirovina predstavlja nepravedno zapostavljen deo mleka koji može i mora biti primenjen u ishrani ljudi. Proteini surutke spadaju u nutritivno najvrednije proteine zahvaljujući svom sastavu koji karakteriše veliki udeo esencijalnih aminokiselina (najviše lizina, cisteina i metionina i aminokiselina razgranatog lanca). Zbog ovakvog aminokiselinskog sastava, proteini surutke imaju mnogo veću biološku vrednost u poređenju sa kazeinom i drugim proteinima animalnog porekla, uključujući i proteine jajeta koji su dugo smatrani referentnim. Sa druge strane, fermentacijom surutke pomoću bakterija mlečne kiseline proizvodi se prvenstveno mlečna kiselina ali i drugi metaboliti kao što su aromatične komponente koje doprinose ukusu i teksturi proizvoda. Tokom mlečno kisele fermentacije oslobađaju se proteaze i peptidaze što dovodi do hidrolize proteina surutke, čiji proizvodi mogu imati određenu fiziološku ulogu u organizmu. Fermentacijom surutke smanjuje se količina β -laktoglobulina, proteina sa velikim alergenim potencijalom, i proizvode biološki aktivni peptidi sa potencijalnim fiziološkim funkcijama. Proteini surutke u sebi sadrže sekvence aminokiselina koje se takođe mogu osloboditi kontrolisanom enzimskom hidrolizom. Kontrolisanom hidrolizom je moguće iz proteina koji nemaju karakterističnu biološku aktivnost, dobiti jedan ili čak više peptida sa širokim spektrom bioaktivnog delovanja (antioksidativna, antihipertenzivna, imunomodulatorna, antiinflamatorna, antireumatska, antimikrobna i dr.). Shodno svemu navedenom, bioaktivni peptidi surutke koji ulaze u sastav hidrolizata proteina surutke ispoljavaju unapređen nutritivni kvalitet u odnosu na netretirane odnosno izvorne proteine surutke, i njihovom primenom se može značajno doprineti kvalitetu široke palete prehrambenih proizvoda. Uključivanje bioaktivnih hidrolizata proteina surutke u prehrambene proizvode može se uticati na formiranje čvršćeg matriksa obogaćenog proizvoda bez narušavanja polazne strukture i kvaliteta, što u velikoj meri utiče na unapređenje senzornih karakteristika finalnog proizvoda. Primena hidrolizata visoke antioksidativne aktivnosti i sposobnosti inhibicije autooksidacije

masnih kiselina u velikoj meri doprinosi povećanju stabilnosti prehrambenih proizvoda, suzbijanjem štetnog dejstva slobodnih radikala kao najčešćih uzroka propadanja hrane. Antimikrobna aktivnost, posmatrana kao sposobnost inhibicije rasta patogenih mikroorganizama kao glavnih uzročnika kontaminacije prehrambenih proizvoda, može se smatrati dodatnim svojstvom hidrolizata koje doprinosi očuvanju kvaliteta i bezbednosti prehrambenih proizvoda. Ovaj inovativni postupak proizvodnje i primene bioaktivnih hidrolizata proteina surutke kao rezultat ima prehrambeni proizvod unapređenih senzornih i nutritivnih karakteristika dobijen uz ostvarenje koncepta uštede energije i zaštite životne sredine.

2.3. Metode istraživanja

U cilju realizacije predmeta i cilja ovog istraživanja i potvrde postavljenih hipoteza, biće korišćena kombinacija mikrobioloških, hemijskih i senzornih metoda ispitivanja.

Surutka i koncentrat proteina surutke biće hemijski, mikrobiološki, senzorno i nutritivno okarakterisani pre i nakon procesa njene prerade. U cilju proizvodnje bioaktivnih hidrolizata proteina surutke biće izvršena selekcija odgovarajuće kulture mikroorganizama i komercijalnih enzimskih preparata, optimizacija procesa mikrobne fermentacije i enzimske hidrolize, kao i karakterizacija proizvedenih bioaktivnih hidrolizata proteina surutke.

Tokom procesa selekcije, optimizacije i karakterizacije biće praćen sadržaj antioksidanasa, stepen hidrolize, sadržaj proteina, sadržaj aminokiselina, emulgujuća svojstva, svojstvo stvaranja pene, digestibilnost, bioraspoloživost, antiinflamatorna, antireumatska i antimikrobna aktivnost kao i sposobnost suzbijanja oksidacije masnih kiselina proizvedenih bioaktivnih hidrolizata proteina surutke. Antioksidativna aktivnost hidrolizata će biti određivana primenom metode za određivanje sposobnosti inhibicije slobodnih DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) radikala, FRAP metode, kao i metode po Folinu za određivanje ukupnih polifenola. Stepen hidrolize će biti određivan standardnom pH-stat metodom. Sadržaj proteina će se određivati metodom po Bradford-u dok će se sadržaj aminokiselina određivati primenom Ninhidrin metode.

Radi detaljnije analize sastava antioksidativne aktivnosti hidrolizata primeniće se postupak ekstrakcije proizvedenih peptida primenom različitih rastvarača, na osnovu čega će se odrediti doprinos lipofilnih i hidrofilnih bioaktivnih peptidnih frakcija u ukupnoj antioksidativnoj aktivnosti hidrolizata. Na ovaj način doći će se do saznanja vezanih za grupu prehrambenih proizvoda u kojoj proizvedeni antioksidativni peptidi mogu ispoljiti svoj maksimalni efekat. Osim toga, izvršiće se određivanje funkcionalnih karakteristika hidrolizata, emulgujućih svojstava, kriming indeksa i sposobnosti stvaranja pene na osnovu kojih će se okarakterisati potencijalno ponašanje hidrolizata prilikom njihove primene u različitim tehnološkim procesima prehrambene industrije. U sklopu nutritivne karakterizacije izvršiće se ispitivanje bioraspoloživosti proizvedenih hidrolizata, kao veoma osetljiv faktor po pitanju njihove primene. Osim toga izvršiće se *in vitro* ispitivanje digestibilnosti, antimikrobne, antiinflamatorne i antireumatske aktivnosti, kao i određivanje sposobnosti inhibicije autooksidacije masnih kiselina (na modelu Oleinske kiseline). Digestibilnost će se određivati simuliranjem gastrointestinalnih uslova, dok antimikrobna aktivnost biti ispitivana primenom *liquid challenge* metode pomoću bakterijskih sojeva *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* ATCC 11778 i *L. monocytogenes*. Anti-inflamatorna aktivnost će biti određena kao sposobnost stabilizacije membrane crvenih krvnih zrnaca (RBC), dok će antireumatska aktivnost biti određivana kao

sposobnost inhibicije denaturacije kravljeg serum albumina (BSA), i dobijene vrednosti će se porediti sa aktivnošću leka Diklofenak kao standarda.

Nakon kompletne karakterizacije proizvedeni hidrolizati će biti inkorporirani u masni mlečni krem nakon čega će se odrediti uticaj dodatih hidrolizata na veličinu čestica i teksturu ispitivanog krema, radi ispitivanja uticaja dodatih hidrolizata na kvalitet krema kao sredstva za punjenje u konditorskim proizvodima. Nakon toga će se izvršiti praćenje stabilnosti antioksidativne aktivnosti krema tokom 3-6 meseci koliko obično iznosi rok trajanja konditorskih proizvoda.

Dodatkom hidrolizata u masni mlečni krem se unose bioaktivne komponente koje doprinose njegovom nutritivnom kvalitetu, na osnovu toga biće dat predlog deklarisanja proizvoda u kome će krem biti primenjen.

2.4. Očekivani naučni doprinos

Količina proizvoda od surutke na tržištu je zanemarljivo mala u odnosu na količinu fermentisanih mlečnih proizvoda što navodi na zaključak da bi se unapređenjem procesa fermentacije surutke mogli dobiti novi nekonvencionalni proizvodi koji bi zauzeli značajnije mesto u paleti mlečnih proizvoda namenjenih širokoj potrošnji. U tom smislu rezultati predložene doktorske disertacije bi ostvarili naučni doprinos u pogledu:

- Definisanja sojeva bakterija mlečnog vrenja najpogodnijih za izvođenje procesa hidrolize surutke uz zadovoljenje kriterijuma ekonomičnosti procesa i funkcionalnosti proizvedenih hidrolizata.
- Definisanja enzimskih preparata najpogodnijih za izvođenje procesa hidrolize surutke uz zadovoljenje kriterijuma ekonomičnosti procesa i funkcionalnosti proizvedenih hidrolizata.
- Određivanje specifičnih bioaktivnosti hidrolizata proteina surutke.
- Karakterizacija bioaktivnosti proizvedenih hidrolizata u smislu određivanja minimalno potrebnih doza za postizanje određenog bioaktivnog delovanja.
- Određivanje funkcionalnih karakteristika hidrolizata proteina surutke u cilju definisanja mogućnosti njihove primene u različitim tehnološkim procesima prehrambene industrije.
- Definisanje optimalnog biotehnološkog postupka za proizvodnju hidrolizata visoke bioaktivnosti.
- Ispitivanje mogućnosti primene proizvedenog hidrolizata u punjenim konditorskim proizvodima.
- Ispitivanje uticaja i doprinosa primenjenog hidrolizata na kvalitet i stabilnost masnog mlečnog krema.
- Predlog deklarisanja proizvoda u kome će ispitivani krem biti primenjen.
- Unapređenje konditorskih proizvoda i njihovo približavanje funkcionalnoj hrani primenom bioaktivnih hidrolizata surutke.
- Rešavanju problema odlaganja otpadne surutke njenim prevođenjem u funkcionalni proizvod namenjen ljudskoj ishrani.

2.5. Plan istraživanja i struktura rada

Predmet rada ove doktorske disertacije je optimizacija procesa proizvodnje biotehnološki modifikovanih proteina surutke (bioaktivnih peptida) visoke antioksidativne aktivnosti,

unapređenih tehnoloških i funkcionalnih svojstava, kao i ispitivanje mogućnosti njihove primene u prehrambenoj industriji. U toku rada na disertaciji predviđene su sledeće faze i aktivnosti u istraživanju:

1. Izvršiće se ispitivanje potencijala različitih bakterija mlečno-kiselinskog vrenja za proizvodnju hidrolizata visoke antioksidativne aktivnosti, sa ciljem selekcije mikroorganizma koji je sposoban da fermentiše surutku na način da se dobije funkcionalni proizvod željenih karakteristika.
2. Izvršiće se ispitivanje potencijala različitih enzimskih preparata za proizvodnju hidrolizata visoke antioksidativne aktivnosti, sa ciljem selekcije enzima koji je sposoban da fermentiše surutku na način da se dobije funkcionalni proizvod željenih karakteristika.
3. Izvršiće se ispitivanje tehnoloških karakteristika, bioraspoloživosti i digestibilnosti proizvedenih hidrolizata.
4. Izvršiće se sprej sušenje proizvedenih hidrolizata u cilju njihovog prevođenja u stabilan oblik (prah) čime se znatno olakšava njihova primena.
5. Ispitaće se antioksidativna aktivnost hidrolizata u prahu kao i njihova *in vitro* antimikrobna, anti-inflamatorna i antireumatska aktivnost. Takođe će se odrediti minimalne potrebne koncentracije hidrolizata za ispoljavanje zadovoljavajućeg stepena bioaktivnosti.
6. Ispitaće se potencijal proizvedenih hidrolizata u prahu da inhibiraju autooksidaciju Oleinske kiseline sa ciljem utvrđivanja njihovog doprinosa u očuvanju kvaliteta prehrambenih proizvoda.
7. Proizvedeni hidrolizati u prahu će se inkorporirati u masni mlečni krem nakon čega će se ispitati njihov uticaj na kvalitet i stabilnost krema.
8. U poslednjem delu rada biće dat predlog receptura koje bi u svom sastavu imale masni mlečni krem obogaćen bioaktivnim hidrolizatima proteina surutke kao i predlog deklarisanja dizajniranih konditorskih proizvoda.

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 definisani glavni ciljevi disertacije, predmet istraživanja i doprinos disertacije.

U poglavlju ***Teorijski deo*** biće navedena analiza prethodnih istraživanja koja se odnose na:

- Potencijal i značaj surutke kao sirovine;
- Proteini surutke
- Želudačne i pankreasne proteinaze
- Pepsin
- Tripsin
- Svojstva hidrolizata proteina surutke
- Bioaktivni peptidi surutke
- Funkcionalni konditorski proizvodi

U poglavlju ***Eksperimentalni deo*** biće navedene metode korišćene u eksperimentalnom radu:

- Materijali i hemikalije korišćene u radu;

- Opis tehnika za selekciju odgovarajućeg mikroorganizma za proizvodnju bioaktivnih hidrolizata proteina surutke;
- Opis tehnika za selekciju odgovarajućeg enzima za proizvodnju bioaktivnih hidrolizata proteina surutke;
- Opis tehnike sprej sušenja bioaktivnih hidrolizata proteina surutke;
- Opis metoda za određivanje sastava bioaktivnih hidrolizata proteina surutke;
- Opis metoda za određivanje bioaktivnosti hidrolizata proteina surutke;
- Opis metoda za određivanje funkcionalnih svojstava bioaktivnih hidrolizata proteina surutke;
- Opis metoda za inkorporiranje bioaktivnih hidrolizata proteina surutke u masni mlečni krem;
- Opis metoda za određivanje teksture i veličine čestica;
- Opis metoda za određivanje kvaliteta i stabilnosti masnog mlečnog krema;

U poglavlju **Rezultati i diskusija** biće naveden detaljan prikaz svih dobijenih rezultata kao i njihova diskusija. Detaljno će biti prodiskutovani rezultati vezani za optimizaciju procesa proizvodnje bioaktivnih hidrolizata proteina surutke pomoću selektovanih sojeva i enzima. Razmatraće se uticaj procesnih parametara na mogućnost proizvodnje hidrolizata izraženo visoke antioksidativne aktivnosti. Posebno će biti diskutovana funkcionalna i nutritivna svojstva proizvedenih bioaktivnih hidrolizata proteina surutke kao i njihov uticaj na kvalitet i stabilnost masnog mlečnog krema tokom procesa skladištenja. Na osnovu dobijenih rezultata predložiće se optimalni parametri procesa proizvodnje bioaktivnih hidrolizata proteina surutke kao i formulacije konditorskih proizvoda sa optimalnim sastavom u pogledu nutritivnih, senzornih svojstava i stabilnosti.

U poglavlju **Zaključak** će biti sumirani dobijeni rezultati i dati zaključci izvedeni na osnovu izvršenih ispitivanja.

U poglavlju **Literatura** biće dat pregled navoda citiranih u disertaciji, kao i radova proisteklih istraživanjem u okviru ove doktorske disertacije.

2.6. Zaključak i predlog Komisije

Na osnovu izložene analize podobnosti teme doktorske disertacije Komisija smatra da je predložena tema kandidata Salem Mohamed Embiriekah, master inženjera, pod naslovom **“Funkcionalna svojstva i primena hidrolizata proteina surutke dobijenih biotehnološkim putem (Functional properties and possibility of application of whey protein hydrolysates obtained by biotechnological processing)”** naučno zasnovana i predlaže Nastavno-naučnom veću da je prihvati. Za mentora se predlaže Dr Marica Rakin, redovni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnoj oblasti Tehnološko inženjerstvo za koju je Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu matična ustanova.

Beograd, 26.06.2017.

ČLANOVI KOMISIJE

.....
Prof. dr Marica Rakin, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

.....
Prof. dr Zorica Knežević-Jugović, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

.....
Dr Maja Bulatović, naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

.....
Dr Danica Zarić, naučni saradnik
IHIS Tehnoexperts, Istraživačko-razvojni centar, Beograd