

Наставно- научном већу
Пољопривредног факултета
Универзитета у Београду
Београд- Земун
28.04.2016.

Предмет: Извештај Комисије о урађеној докторској дисертацији дипл.биохем. Милице Павлићевић

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, бр. 33/8-5.5. од 27.04.2016. године одређена је комисија за оцену и одбрану урађене докторске дисертације коју је поднела **Милица Павлићевић**, дипл. биохемичар, под насловом **"УТИЦАЈ САДРЖАЈА ПОДЈЕДИНИЦА β КОНГЛИЦИНИНА НА ТЕХНОЛОШКЕ ФУНКЦИОНАЛНЕ ОСОБИНЕ ПРОТЕИНА СОЈЕ"**. Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију и Наставно-научном већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ И ПРЕДЛОГ

1. Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација Милице Павлићевић написана је на 144 странице текста илустрованог са 24 слике и 18 табела. *Прилог* садржи 35 слика и 27 табела. Поред тога, теза садржи извод на српском и енглеском језику. Теза се састоји од следећих поглавља: *Увод* (стр.1-2), *Преглед литературе* (стр. 3-25), *Научне хипотезе и циљ истраживања* (стр.26-27), *Материјал и методе* (стр.28-34), *Резултати и дискусија* (стр.35-70), *Закључак* (стр.71-74), *Списак скраћеница* (стр.75), *Прилог* (стр. 76-126), *Литература* (стр. 127-144), *Биографија и Изјаве*. У оквиру поглавља *Преглед литературе*, *Материјал и методе*, *Резултати и дискусија* и *Прилог* постоји више потпоглавља.

2. Приказ и анализа докторске дисертације

2.1. Увод

У уводу је укратко указано на нутритивни значај сојиних протеина и на проблеме који се могу срести приликом одабира сорти који би давале производе са жељеним технолошким и функционалним карактеристикама. Иако семе соје садржи велики проценат протеина који се карактеришу високом заступљеношћу есенцијалних аминокиселина, сојини протеини су сиромашни аминокиселинама које садрже сумпор. Додатан проблем са нутритивног аспекта је што изузетно компактна кватернарна структура сојиних протеина и присуство инхибитора протеиназа условљавају отежану сварљивост. С обзиром да 11S протеин садржи већи проценат аминокиселина са сумпором него 7S протеин, селекцијом и оплемењивањем високопротеинских генотипова може се постићи повећање односа 11S/7S. Овакво повећање 11S/7S односа утицаће и на технолошка функционална својства целокупног протеинског

екстракта, па ће сорте са већим 11S/7S односом показивати промењена гелирајућа и емулгујућа својства.

Различити генотипови соје имају различито присуство појединачних подјединица 11S и 7S протеина. Сдржај датих подјединица има различит утицај на појединачне карактеристике производа, па ће нпр. због веће хидрофилности, јачи утицај на емулгујуће особине имати α и α' , него β субјединица β конглицинина. Бројне домаће сорте карактерише присуство β' субјединице. Новији радови су показали да је садржај β' подјединице негативно корелисан са садржајем екстрахованих протеина и чврстином тофуа .

2.2. Преглед литературе

Кандидаткиња је у овом поглављу, консултујући савремену релевантну научну литературу из области која је покрива циљ и предмет њене дисертације приказала резултате истраживања других аутора групишући их у девет потпоглавља и то: 2.2.1. Протеини соје, 2.2.2. Структура и изоформе β конглицинина, 2.2.3. Кристална структура β конглицинина и утицај на функционалност, 2.2.4. Здравствени ефекти исхране богате сојом, 2.2.5. Утицај концентрације и састава β конглицинина на растворљивост, 2.2.6. Утицај концентрације и састава β конглицинина на емулгујућа својства, 2.2.7. Утицај концентрације и састава β конглицинина на гелирајућа својства и 2.2.8. Раздвајање сојиних протеина дводимензионалном (2Д) електрофорезом.

У првом поглављу укратко је изложен протеински састав семена соје и објашњена је структура и значај појединачних протеина. У другом поглављу изложене су карактеристике подјединица β конглицинина (аминокиселински састав, pI вредност, степен гликозилације) и дискутовано је присуство различитих изоформи датог протеина. Посебна пажња посвећена је резултатима одређивања аминокиселинске секвенце и степена гликозилације β' подјединице β конглицинина. У наредном поглављу описана је кристална структура различитих изомера β конглицинина и присуство екстензионих региона и региона „сржи“ доведено је у везу са технолошко функционалним карактеристикама као што су термална стабилност, растворљивост и емулгујућа својства. Истакнуто је да термална стабилност и површинска хидрофобност преваходно зависе од неполарнијег региона „сржи“, док се растворљивост и емулгујућа својства доводе у везу са поларнијим екстензионим регионом. У четвртом поглављу изложени су здравствени ефекти исхране богате сојом. Напоменуто је да повећан унос сојиних производа може имати антиканцерогени, антиинфламаторни, антиоксидативни, хиполипидемијски, антибактеријски, остеопротективни ефекат, као и позитивне ефекте на имунитет, супресију апетита, менталну активност и хормонални статус. С друге стране, напоменуто је да унос сојиних протеина може довести до алергијских реакција. Наредно поглавље говори о ефекту концентрације и састава β конглицинина на растворљивост. Предочено је да ће растворљивост β конглицинина зависити од садржаја подјединица, тј. присутне изоформе, као и рН раствора. У поглављу шест излаже се утицај концентрације и састава β конглицинина на емулгујућа својства. Истакнута је разлика у ефектима 11S протеина и 7S протеина на емулгујућу стабилност и емулгујућу активност. Такође је структура подјединица β конглицинина доведена у везу са њиховим различитим ефектима на емулгујуће особине. У наредном поглављу обрађен је ефекат промене садржаја и састава β конглицинина на гелирајуће особине сојиних протеина. Напоменуто је да структура гелова сојиних протеина зависи од рН, јонске јачине, температуре, брзине мешања, односа 11S/7S и субјединичног састава појединачних протеина. У последњем поглављу дискутовано је о факторима који доприносе добијању добрих 2Д електрофоретских раздвајања сојиних

протеина. Истакнуто је да ће изглед 2Д електрофореграма у највећој мери зависити од избора методе екстракције сојиних протеина.

2.3. Циљ истраживања

Кандидаткиња наводи да је циљ ове докторске дисертације био да се утврди утицај садржаја појединачних подјединица β конглицинина, у првом реду β' подјединице на растворљивост, емулгујућа и гелирајућа својства сојиних протеина. С обзиром да се одабрани генотипови разликују у садржају β' подјединице, могло се претпоставити да ће се технолошка функционална својства датих генотипова разликовати. Обзиром да су β и β' подјединице хидрофобније од α и α' подјединица, могло се очекивати да ће сорте са већим садржајем β и β' подјединице имати мању растворљивост, ниже вредности индекса стабилности емулзије (ЕСИ), као и негативан утицај на чврстину гела на неутралном рН.

Резултати ових истраживања били би значајни за селекционе програме производње сорти соје за посебне намене, које карактерише специфичан протеински састав семена. Такође, утврђивањем везе између подјединичног састава протеина семена и њихове растворљивости, емулгујућих и гелирајућих особина омогућило би се побољшање квалитета и нутритивне вредности сојиних протеинских производа, као и олакшало вођење технолошког процеса.

2.4. Материјал и методе

Кандидаткиња је испитивала технолошка функционална својства девет генотипова соје (Новосајанка, Ваљевка, Војвођанка, Протеус, Мапле Глен, Армавискаја, Сава, Тријумф и Фаворит), одабраних на основу разлике у садржају β' подјединице β конглицинина. Ради каснијег испитивања ефекта услова на промену субјединичног састава, ових 9 генотипова је праћено кроз две године (2010 и 2011). Семе соје добијено је од Института за ратарство и повртарство (Нови сад, Србија).

Садржај воде у узорцима одређен је стандардном ААСС методом. Укупни садржај протеина одређен је Кједаловом методом. Садржај протеина израчунат је коришћењем конверзионог фактора 6.25. Садржај растворљивих протеина одређен је користећи *Bradford*-ову микрометоду. Састав растворљивих протеина одређен је електрофорезом под денатурационим условима. SDS електрофореза је рађена према методи предложеној од стране *Fling* и *Gregerson*-у (1986) на 12% гелу за раздвајање и 5% гелу за концентровање. За одређивање растворљивости екстракција је вршена на следећи начин: семе је самлевено у блендеру и добијено брашно одмашћено *n*-хексаном користећи имерзиони поступак. Протеини су затим из обезмашћеног брашна екстраховани водом. 500 mg обезмашћеног брашна је екстраховано са 4 ml дестиловане воде мешањем на механичкој трескалици. Талог је одвојен центрифугирањем и супернатант је подељен на 4 дела. рН једног дела је остављено као рН 6, док су остали супернатанти подешени на рН 3, рН 5, рН 8. Како би се постигла жељена вредност рН, узорци су мешани на магнетној мешалици 15 мин и талог је одвојен центрифугирањем.

Емулгујућа својства одређена су према методи предложеној од стране *Pearce*-а и *Kinsela*-е (1978). Стабилност и активност емулзије изражене су преко вредности индекса стабилности емулзије (ЕСИ) и индекса активности емулзије (ЕАИ).

Протеински гелови су припремена на следећи начин: протеини су екстраховани мешањем обезмашћеног брашна и воде чији је рН подешен на 6,8. Протеини из супернатанта преципитирани су при рН 4,8 и лиофилизоване. Након тога, протеини су

растворени у дестилованој води (рН подешено на 6,8) до коначног садржаја протеина од 11 %. Раствор протеина је деаерисан, постављен у стаклену посуду и загреван 30 мин на 93°C у воденом купатилу. Добијени раствор протеина брзо је охлађен до собне температуре и процес гелирања започео је након додатка NaCl и CaCl₂. Степен бубрења гелова је одређен гравиметријски. Реолошки параметри гелова, као што су модул сачуване енергије (G'), модул изгубљене енергије (G'') и тангенс угла механичких губитака - $\tan \delta$ (G''/ G') мерени су у опсегу фреквенци 0.1–100 rad/s при деформацији од 1.0 %.

За 2д електрофорезу протеини су екстраховани коришћењем неколико метода екстракције: ацетонском екстракцијом, фенолном екстракцијом, екстракцијом уреа пуфером, екстракцијом Tris пуфером, екстракцијом Tris-уреа пуфером и екстракцијом тиореа-уреа пуфером. Број и интензитет тачака, као и њихова x и y вредност тачака одређен је у софтверу SigmaGel, верзија 1.1.

Добијени резултати обрађени су одговарајућим статистичким методама. Корелационе матрице и ANOVA тестови рађени су у Statistica софтверу, верзија 8.0. Анализа главних компоненти (PCA) је рађена у SPSS софтверу (верзија 2.0), коришћењем Verimax ротације.

2.5. Резултати и дискусија:

Добијени резултати су приказани кроз пет потпоглавља.

2.5.1. Подјединични састав

Испитивањем састава појединачних генотипова, може се видети да β' подјединица није била присутна у узорцима Протеус 2010 и Протеус 2011, док се њен садржај у осталим узорцима кретао од 1,03–4,91%. Кандидаткиња наводи да се наведени резултати могу објаснити тиме што се Протеус и Мапле Глен дефинишу се као високопротеинске сорте, а по резултатима пријављеним од стране Ђорђевића (2010), високопротеинске сорте карактеришу се смањеним садржајем β' подјединице. Међутим, и ако је у испитиваним високопротеинским сортама садржај β' подјединице заиста био мањи, статистички значајна негативна корелација није нађена, што се може објаснити великим варијацијама у садржају осталих подјединица 7S и 11S. α' , α и β подјединица кретале су се у опсегу 4,10–6,91%, 3,48–6,64% и 3,63–6,28%. Кисели полипептиди глицинина су у свим узорцима биле процентуално заступљенији од базних и кретале су се у опсегу 20,5–27,8%, док су базни полипептиди били у опсегу 13,7–18,9 %. Однос киселих према базним полипептидима кретао се у опсегу 1,14–1,73, при чему је најмањи однос нађен у узорку Армавискаја 2010, а највећи у узорку Новосађанка 2010. Однос глицинина према β конглицинину (11S/7S) кретао се у опсегу од 1,8–2,7. Међутим, иако варирање у садржају подјединица условљава релативно велико варирање у садржају β конглицинина и глицинина, садржај укупних растворљивих протеина показао је мање варијације од очекиваних што, како кандидаткиња наводи, иде у прилог тези предложеној од стране Ђорђевића (2010) да вероватно постоји неки молекулски механизам који регулише количину укупних растворљивих протеина. Такође је нађено да иако и садржај β конглицинина и садржај глицинина утиче на садржај растворљивих протеина, утицај 11S протеина је значајнији од утицаја 7S протеина, што потврђује да код високопротеинских сорти долази до повећања у садржају глицинина. Од свих подјединица β конглицинина, α' подјединица показује највећи ефекат како на садржај 7S, тако и на садржај укупних растворљивих протеина. Тако да се може рећи да је садржај α' подјединица главни фактор који ће одређивати ефекат садржаја 7S на садржај укупних растворљивих протеина.

Из анализе главних компоненти уочава се да ће генотипови са вишим 11S/7S односом и већим садржајем α , киселих и базних полипептида имати мањи садржај β' субјединице.

2.5.2. 2Д електрофореза

Поређењем резултата различитих метода екстракције, уочава се да се у сличају екстракције Tris пуфером, ацетонске екстракције и екстракције пуфером за изоелектрично фокусирање јавља велико хоризонтално развлачење на 2Д електрофореграмима. Екстракције уреа пуфером и екстракција Tris-уреа пуфером дале су мали број тачака и велико хоризонтално развлачење, што је вероватно била последица јонизације урее у киселом рН. Иако су тачке добијене екстракцијом са тиоуреа-уреа пуфером нижег интензитета, оне су најбројније, што омогућава симултано поређење и високо заступљених и мање заступљених протеина. Међутим, код генотипова који се карактеришу високим садржајем гликозилованих α и α' субјединица отежано је одређивање тачака дензитометријом, јер присуство шећера омета 2Д електрофорезу на тај начин што долази до међусобне асоцијације полипептида у гелу. Додатна тачка која се јавља у узорцима Новосађанка 2010 и Ваљевка 2010, али не и у узорку Протеус 2010 би могла представљати β' подјединицу. Ова тачка је већег интензитета код узорка Новосађанка 2010, који садржи већу проценат β' подјединице и мањег интензитета у узорку Ваљевка 2010 (који садржи мањи проценат β' подјединице).

2.5.3. Растворљивост сојиних протеина

Садржај воде у узорцима варирао је од 8,32 % до 19,88 %. Садржај укупних протеина кретао се од 343,85 mg/g суве масе до 476,77 mg/g суве масе. Садржај растворљивих протеина на рН 6 кретао се од 179,02 mg/g суве масе до 286,28 mg/g суве масе. Садржај растворљивих протеина на рН 3 кретао се од 25,76 mg/g суве масе до 102,2 mg/g суве масе. Садржај растворљивих протеина на рН 5 кретао се од 8,71 mg/g суве масе до 37,4 mg/g суве масе. Садржај растворљивих протеина на рН 8 кретао се од 146,13 mg/g суве масе до 233,88 mg/g суве масе. Сви генотипови показали су највећу растворљивост на рН 6 и најмању растворљивост на рН 5. Смањена растворљивост на рН 3 у поређењу са растворљивошћу на рН 8 може се објаснити димеризацијом 7S у 9S до које долази у киселој средини. За разлику од ефекта α' подјединице, повећање садржаја β' подјединице условило је смањење укупних протеина у семену. Генотипови са већим садржајем α и α' подјединице показали су бољу растворљивост на рН 6 и рН 8, што се може објаснити присуством киселих, поларних екстензионих региона на α и α' . Садржај β' подјединице на рН 6 и рН 8 био је негативно корелисан са растворљивошћу. Оваква негативна корелација може бити објашњена недостатком екстензионих региона и присуством већег броја хидрофобних аминокиселинских остатака. Садржај β подјединице такође је био негативно корелисан са растворљивошћу на рН 6 и рН 8, али ове корелације нису биле статистички значајне. Однос 11S/7S био је позитивно корелисан са растворљивошћу на рН 3, што се може објаснити добром растворљивошћу киселих полипептида глицинина у рН опсегу 2,0-4,0 и 6,5-12,0. Из анализе главних компоненти, с обзиром на то је прва главна компонента корелисана је са растворљивошћу на рН 3, рН 5 и рН 6, али како је корелација са растворљивошћу на рН 6 негативна, а корелације са растворљивошћу на рН 3 и рН 5 позитивне, може се очекивати да ће узорци са већом растворљивошћу на рН 6 показивати мању растворљивост на рН 3 и рН 5.

2.5.4. Емулгујуће особине сојиних протеина

ЕСИ вредности за све узорке биле су најмање на рН 5. Највише вредности за ЕСИ узорци су имали на рН 8, док су вредности ЕСИ на рН 6 биле више у поређењу са вредностима ЕСИ на рН 3. Вредности ЕСИ показале су позитивну корелацију са растворљивошћу, на свим рН, осим на рН 5. Однос 11S/7S је био негативно корелисан са ЕСИ на рН 6 и рН 8, али је на рН 3 садржај киселих полипептида, као и садржај базних полипептида, као и однос киселих/базним полипептидима су били позитивно корелисани са ЕСИ вредностима. Садржај α и α' подјединица био је позитивно корелисан са ЕСИ на рН 6 и рН 8. Услед смањене растворљивости садржај β подјединице био је негативно корелисан са ЕСИ на рН 6 и рН 8, иако дате корелације нису биле статистички значајне. Статистички значајна негативна корелација је нађена између садржаја β' подјединице и вредности ЕСИ на рН 6 и рН 8. Различити ефекти α и α' подјединице у поређењу са ефектима β и β' се, како кандидаткиња наводи објашњавају већим степеном гликозилације и већом флексибилношћу екстензионих региона α и α' .

Вредности ЕАИ биле су негативно корелисане са растворљивошћу на рН 6 и рН 8 и позитивно корелисане са растворљивошћу протеина на рН 3. ЕАИ вредности су показале позитивну корелацију са односом 11S/7S на свим испитиваним рН вредностима. АНОВА тест је показао да је заједнички утицај $\alpha+\alpha+\beta$ субјединице био негативно корелисан са вредностима ЕАИ на рН 5, рН 6 и рН 8. Садржај β' подјединице био је позитивно корелисан са ЕАИ на рН 6 и рН 8, али само је на рН 6 корелација била статистички значајна. Садржај β подјединице такође је био позитивно корелисан са ЕАИ на рН 6 и рН 8, премда те корелације нису биле статистички значајне. Негативна корелација нађена је између вредности ЕСИ и ЕАИ на рН 6 и рН 8, док је позитивна корелација нађена између вредности ЕСИ и ЕАИ на рН 3. Позитивна корелација нађена је између садржаја укупних протеина и вредности ЕАИ на рН 6 и ЕАИ на рН 8.

2.5.5. Реолошке особине сојиних протеина

Степени бубрења веома су варирали међу узорцима и кретали су се у опсегу 13.22 % - 30.14 %, што је указивало на различит степен умрежености гелова. Вредности степена бубрења биле су позитивно корелисане са садржајем α' и α подјединице, што се може објаснити високим садржајем поларних аминокиселина и гликозидних остатака у α' и α подјединици. Очекивано, степен бубрења био је негативно корелисан са вредностима за модул крутости.

Највећи ефекат на чврстину гелова показао је однос 11S/7S (повећање односа 11S/7S за 71% резултује у повећању G'_{100} за 220%). Како кандидаткиња наводи, дата зависност може се објаснити стабилизацијом гелова превасходно дисулфидним везама и постојањем β конглицинина као смеше мономера и димера, што спречава формирање униформне мреже.

Позитивна корелација између односа киселих/базних полипептида и вредности G'_{100} може се објаснити учешћем киселих полипептида у грађењу глицининске мреже. Наведене резултате кандидаткиња је објашњавала слабом растворљивошћу базних полипептида на испитиваном рН.

Гелови са нижим садржајем β' подјединице су имали веће вредности G'_{100} . Кандидаткиња наводи два могућа објашњења оваквих резултата - негативну корелацију између растворљивости и садржаја β' подјединице (што води грађењу агрегата у гелу) и немогућност грађења електростатичких веза. Међутим, код генотипова који имају и висок садржај β' субјединице и висок однос 11S/7S и висок однос киселих/базним полипептидима

вредности G'_{100} биле су релативно високе, што је указало да је ефекат високих односа 11S/7S и киселих/базним полипептидима израженији од ефекта садржаја β' подјединице.

У поглављу "дискусија резултата" кандидаткиња је добијене резултате повезивала са резултатима других аутора и давала тумачења на основу којих је формулисала закључке.

2.6. Закључак

У закључном разматрању докторант, сумирајући резултате, истиче важније сегменте рада међу којима се посебно могу издвојити следећи ставови.

Иако је уочено да је у високопротеинским сортама соје био мањи садржај β' подјединице, корелација β' подјединице и садржаја укупних растворљивих протеина није била статистички значајна. Садржај α' подјединице био је негативно корелисан како са садржајем укупних растворљивих протеина, тако и са садржајем 11S. Овакав утицај садржаја α' подјединице би могао да објасни корелацију између садржаја 7S и 11S у укупним растворљивим протеинима.

Резултати 2Д електрофорезе указали су да екстракција Tris пуфером није погодан метод екстракције за анализу сојиних протеина 2Д електрофорезом. Као најефикаснији метод показала се екстракција тиоуреа-уреа пуферима. На основу 2Д електрофорезе 7S фракције, могу се пронаћи тачке које одговарају по маси и pI вредности одговарају подјединицама β конглицинина и разликовати сорте које се разликују по синтези β и β' подјединице.

Садржај растворљивих протеина на рН 3 био негативно корелисан са растворљивошћу на рН 6 и рН 8 и садржај растворљивих протеина на рН 5 био је негативно корелисан са растворљивошћу на рН 6. Овакви резултати указују да различити полипептиди утичуна растворљивост при рН 3, рН 6 и рН 8. Од подјединица 7S, позитивну корелацију са растворљивошћу на рН 6 и рН 8 показао је садржај α и α' подјединице, док је садржај β' подјединице на рН 6 и рН 8 био је негативно корелисан са растворљивошћу. На растворљивост на рН 3 највећи утицај показао је однос 11S/7S и однос киселих/базним полипептидима. Садржај β' подјединице био је негативно корелисан са садржајем укупних протеина, што би могло бити додатно објашњење зашто високопротеински генотипи показују ниски садржај β' подјединице.

На свим посматраним рН вредностима, осим на рН 5, вредности ЕСИ показују корелацију са растворљивошћу. Садржај α и α' подјединица био је позитивно корелисан са вредностима ЕСИ на рН 6 и рН 8, док је садржај β' подјединице на датим вредностима показивао негативну корелацију са ЕСИ вредностима. На рН 3 садржај киселих полипептида, као и садржај базних полипептида, као и однос киселих према базним полипептидима су били позитивно корелисани са ЕСИ вредностима.

За разлику од ЕСИ, вредности ЕАИ биле су негативно корелисане са растворљивошћу на рН 6 и рН 8 и позитивно корелисане са растворљивошћу на рН 3. Генотпови са већим садржајем α и α' подјединице показивали су мање вредности ЕАИ на рН 6 и рН 8, док су генотпови са већим садржајем β' подјединице имали мање вредности ЕАИ на рН 6 и рН 8. Уколико се узме у обзир позитивна корелација између вредности ЕАИ на свим испитиваним рН, као и позитивна корелација између садржаја β' подјединице и вредности ЕАИ на рН 6, може се закључити да је хидрофобност круцијални фактор који утиче на активност емулзије. За разлику од вредности ЕСИ, вредности ЕАИ на рН 6 и рН 8 биле су позитивно корелисане са садржајем укупних протеина.

Генотпови са високим односом 11S/7S давали су гелове са већим вредностима модула крутости и при динамичко механичкој анализи су показивали мање варијације. Гелови са

већим степеном бубрења показивали су ниже вредности модула крутости. Због њиховог високог степена гликозилације и великог садржаја поларних аминокиселина, гелови са већим садржајем α' и α субјединице показивали су веће вредности степена бубрења. Садржај β' подјединице био је негативно корелисан са вредностима модула крутости. Међутим, с обзиром на то да је оваква корелација била знатно нижа у поређењу са корелацијом између односа $11S/7S$ и модула крутости, гелови који имају и висок садржај β' подјединице и висок однос $11S/7S$ ће показивати релативно високе вредности за модул крутости.

2.7. Литература

Приликом избора теме, експерименталног рада и писања тезе, консултована је обимна инострана и домаћа литература и цитирано је укупно 167 литературна податка.

2.8. Списак скраћеница

Ово поглавље садржи детаљно објашњење скраћеница које су коришћене при писању дисертације.

2.9. Прилог

У прилогу су дати у виду слика електрофореграми, као и вредности за G' , G'' и $\tan \delta$ за појединачне узорке. Табеларно су дати резултати дензитометрије 2Д електрофореграма појединачних узорака. Вредности растворљивости, ЕСИ и ЕАИ, садржаја воде и укупних протеина, као и вредности степена бубрења такође су дати табеларно. Табеларно су приказани и резултати анализе главних компоненти.

3. Закључак и предлог комисије

Докторска дисертација дипл. биохем. Милице Павлићевић представља оригиналну, самосталну и заокружену научно-истраживачку целину.

Примењујући одговарајуће савремене инструменталне методе дипл. биохем. Милица Павлићевић је у оквиру постављеног циља и програма рада успешно обавио експериментални део истраживања, што је и документовала у резултатима дисертације. Дискусију резултата водила је успешно, коментаришући своје резултате са резултатима до којих су дошли други аутори. На основу тога изведени су исправни и научно доказани закључци у оквиру којих је успостављена веза између претходно изнесених експерименталних података, а у циљу сагледавања утицаја садржаја, структуре и квалитета резервних протеина у семену испитиваних генотипова соје на њихове технолошке функционалне особине и тако у потпуности обавила истраживања планирана пријавом докторске дисертације.

Наведени резултати указују да ће генотипови са већим садржајем β и β' подјединица β конглицинина показивати слабију растворљивост, али ће имати позитиван ефекат на способност грађења емулзије. Генотипови са већим садржајем α и α' подјединица позитивно ће утицати на растворљивост и стабилност емулзије на неутралним рН вредностима. Према ће генотипови са већим садржајем β' подјединице градити „мекше“ гелове, ефекат овог полипептида на реолошка својства може бити амортизован неким другим факторима, као што је однос $11S/7S$.

Дисертација је писана веома јасним стилем. Технички је веома добро организована и опремљена.

Оцењујемо да ова дисертација представља заокружену научну целину која даје теоријске основе за селекционе програме производње сорти соје за посебне намене, које карактерише специфичан протеински састав семена, а такође, утврђивањем везе између подјединичног састава протеина семена и њихове растворљивости, емулгујућих и гелирајућих особина олакшало би се вођење технолошког процеса и омогућило побољшање квалитета и нутритивне вредности сојиних протеинских производа.

Сматрамо да је проблематика коју је докторанткиња одабрала, експериментално испитала и обрадила у поднетој дисертацији веома значајна, а добијени резултати и њихово тумачење представљају запажени допринос науци и пракси.

Имајући у виду све изнето, комисија позитивно оцењује докторску дисертацију дипл. биохем. **Милице Павлићевић** под насловом: "**УТИЦАЈ САДРЖАЈА ПОДЈЕДИНИЦА β КОНГЛИЦИНИНА НА ТЕХНОЛОШКЕ ФУНКЦИОНАЛНЕ ОСОБИНЕ ПРОТЕИНА СОЈЕ**" и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета да прихвати предложену позитивну оцену и тиме омогући кандидату да пред истом комисијом јавно брани свој рад.

Комисија:

*Др Биљана Вуцелић-Радовић, редовни професор
Пољопривредни факултет-Универзитет у Београду*

*Др Слађана Станојевић, ванредни професор
Пољопривредни факултет-Универзитет у Београду*

*Др Љуба Мандић, редовни професор
Хемијски факултет-Универзитет у Београду*

*Др Мирјана Миловановић, редовни професор
Пољопривредни факултет-Универзитет у Београду*

*Др Вук Ђорђевић, научни сарадник
Институт за ратарство и повртарство-Нови Сад*

Прилог

Докторанд, Милица Павлићевић је у часопису међународног значаја објавила следећи рад, који садржи део резултата из њене дисертације:

Pavličević Milica Ž., Stanojević Slađana P., Vucelić-Radović Biljana V.: Influence of extraction method on protein profile of soybeans, *Hemjska industrija* 67 (4), 687-694 (2013).