DR.10 IZVJEŠTAJ O OCJENI DOKTORSKOGA RADA[1]			
PODACI O DOKTORANDU / DOKTORANDICI			
Ime i prezime doktoranda / doktorandice:		Ana Boban	
Matični broj doktoranda / doktorandice:		445/PT	
OPĆI PODACI O STUDIJU			
Nositelj studija:		Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet	
Naziv studija:		Biotehnologija i bioprocesno inženjerstvo, prehrambena tehnologija i nutricionizam	
Naziv partnerske institucije *(u slučaju da se radi o dvojnom doktoratu)***:**		/	
Naziv upisanog doktorskog studija na partnerskoj instituciji *(u slučaju da se radi o dvojnom doktoratu)***:**		/	
Područje / polje / grana *(ako se doktorski studij izvodi u grani)***:**		Biotehničke znanosti/Prehrambena tehnologija	
PODACI O DOKTORSKOM RADU			
Jezik pisanja rada:		engleski	
Naslov doktorskoga rada:	*Na jeziku pisanja rada*	Impact of indigenous non-*Saccharomyces* yeasts on the aroma profile of young wine from 'Maraština' cv. (*Vitis vinifera* L.)	
	Na hrvatskom	Utjecaj autohtonih kvasaca koji ne pripadaju rodu *Saccharomyces* na profil arome mladoga vina sorte 'Maraština' (*Vitis vinifera* L.)	
	Na engleskom	Impact of indigenous non-*Saccharomyces* yeasts on the aroma profile of young wine from 'Maraština' cv. (*Vitis vinifera* L.)	
MENTOR(I)			
		Ime i prezime, titula:	**Ustanova, država:**
Mentor:		dr.sc. Irena Budić-Leto	Institut za jadranske kulture i melioraciju krša, Hrvatska
Mentor:		/	
POVJERENSTVO ZA OCJENU DOKTORSKOGA RADA			
Imenovano povjerenstvo za ocjenu doktorskoga rada[2]:		**Ime i prezime, titula:**	**Ustanova, država:**
		1..prof.dr.sc. Karin Kovačević Ganić	Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Hrvatska
		2..prof.dr.sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić	Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Hrvatska

[1] Ispunjeni obrazac DR.10 poslati u elektroničkom i tiskanom obliku, potpisan, u nadležnu referadu.
Obrazac popunjava predsjednik Povjerenstva za ocjenu doktorskoga rada.
[2] 6. i 7. član povjerenstva dopušteni su samo u slučaju dvojnog doktorata

	3..izv.prof.dr.sc. Vesna Milanović	Odjel za poljoprivredne, prehrambene i okolišne znanosti, Politehničko sveučilište Marche, Italija
	4../	
	5../	
	6../	
	7../	
Sjednica nadležnog tijela i točka dnevnog reda u okviru koje je imenovano Povjerenstvo:	8. redovita sjednica Fakultetskog vijeća Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta za akad.god.2024./2025. održana 21. svibnja 2025. godine (ad 19)	

OCJENA DOKTORSKOGA RADA

Oblik pisanja rada:	☐ znanstvena monografija ☒ skandinavski model ☐ umjetnički rad	
Rad se ocjenjuje:	☒ prvi put	☐ nakon dorade
Doktorski rad treba:	☒ prihvatiti ☐ doraditi ☐ odbiti	

Obrazloženje prethodno navedenog mišljenja (uz navođenje izvornog znanstvenog ili umjetničkog doprinosa i novog otkrića)**:**

Doktorski rad Ane Boban, mag.chem. izrađen je na Institutu za jadranske kulture i melioraciju krša u Splitu, pod mentorstvom dr.sc. Irene Budić-Leto, znanstvene savjetnice u trajnom izboru.

Disertacija je pisana prema tzv. skandinavskom modelu i temelji se na četiri znanstvena rada objavljena u časopisima prve kvartile (Q1).

Disertacija obuhvaća 140 stranica, uključuje 3 slike, 2 tablice, 195 literaturnih navoda, 2 priloga, životopis pristupnice i mentorice, temeljnu dokumentacijsku karticu te prošireni sažetak na hrvatskom i engleskom jeziku. Rad je strukturiran u sljedeća poglavlja: Uvod, Teorijski dio, Opća rasprava, Zaključci, Literatura, te dva Priloga u kojima su svrstana 4 znanstvena rada i 3 dodatne tablice.

U uvodnom dijelu prikazan je razvoj razumijevanja alkoholne fermentacije, od spontanih procesa do otkrića uloge mikroorganizama koje je definirao Louis Pasteur. Danas se zna da kvasci, osobito *Saccharomyces cerevisiae*, imaju ključnu ulogu u vinarstvu zbog svoje otpornosti i sposobnosti stvaranja poželjnih aromatičnih spojeva. Međutim, učestala primjena ove vrste često vodi do uniformnosti vina, što je potaknulo interes za primjenu kvasaca koji ne pripadaju rodu *Saccharomyces* (ne-*Saccharomyces* kvasaci). Ovi autohtoni kvasci pokazuju veću raznolikost u proizvodnji aromatičnih komponenti te pridonose izražavanju mikrobnog *terroira* i sortne prepoznatljivosti. U novijim istraživanjima pokazali su potencijal za poboljšanje senzornog profila vina i rješavanje tehnoloških izazova. Aroma vina oblikuje se kroz interakcije hlapljivih i nehlapljivih spojeva, pri čemu kvasci sudjeluju u njihovoj aktivaciji, pretvorbi i sintezi. Cilj disertacije je istražiti utjecaj autohtonih ne-*Saccharomyces* kvasaca na aromatični profil vina sorte Maraština, s naglaskom na njihovu ulogu u metabolizmu lipida i aromatskih aminokiselina.

U teorijskom dijelu dan je pregled relevantne znanstvene literature i osnovnih pojmova vezanih uz istraživanje. Najprije je predstavljena autohtona sorta vinove loze Maraština (*Vitis vinifera* L.), njeno podrijetlo, rasprostranjenost te enološki potencijal. Nadalje, detaljno su opisani ne-*Saccharomyces* kvasci, njihova uloga i raznolikost u procesu fermentacije, s naglaskom na enzimske aktivnosti koje mogu doprinijeti oslobađanju i sintezi aromatičnih spojeva iz grožđa. Poseban fokus stavljen je na utjecaj ne-*Saccharomyces* kvasaca na hlapljivi profil vina, kao i na njihovu interakciju s komercijalnim sojem *S. cerevisiae*. U zasebnim poglavljima prikazan je značaj lipida i metabolizma aromatskih aminokiselina tijekom alkoholne fermentacije, kao važnih prekursora aromatičnih spojeva u vinu. Kroz pregled literature raspravljena su i dosadašnja istraživanja na temu fermentacijskog potencijala i doprinosa različitih kvasaca aromi vina. Na temelju dostupnih podataka izložene su hipoteze, ciljevi i očekivani znanstveni doprinosi.

Istraživačka hipoteza glasi da autohtoni ne-*Saccharomyces* kvasci izolirani iz sorte grožđa Maraština:

i. sadrže različite egzogene enzime koji utječu na oslobađanje spojeva arome iz grožđa tijekom alkoholne fermentacije,

ii. proizvode metabolite u fermentaciji koji doprinose poboljšanju arome vina .

Kako bi se ispitala postavljena hipoteza, definirani su sljedeći ciljevi istraživanja:

i. istražiti enzimsku aktivnost autohtonih ne-*Saccharomyces* kvasaca izoliranih iz sorte Maraština

ii. istražiti hlapljive i nehlapljive metabolite autohtonih ne-*Saccharomyces* kvasaca u monokulturi i u sekvencijalnoj fermentaciji sorte Maraština.

U općoj raspravi su analizirani rezultati istraživanja koji su prikazani u objavljenim znanstvenim radovima (Prilog 1) i prošireni rezultati koji su statistički obrađeni i prikazani na Slici 3 i kroz 3 dodatne tablice prikazane u Prilogu 2. Na Slici 3 u raspravi prikazani su rezultati enzimiske karakterizacije koje doprinose boljem razumijevanju potencijala autohtonih ne-*Saccharomyces* izolata. Rasprava je prikazana kroz tri tematske cjeline: (i) enzimska karakterizacija izolata ne-*Saccharomyces* kvasaca, (ii) utjecaj autohtonih ne-*Saccharomyces* kvasaca na hlapljivi profil vina, te (iii) modulacija lipidnog profila i metabolizma aromatskih aminokiselina. Svaka cjelina donosi jasnu i argumentiranu analizu rezultata, uz usporedbu s relevantnim znanstvenim publikacijama.

U zaključku sažeto su prikazani glavni rezultati o autohtonim ne-*Saccharomyces* kvascima u vinu Maraština. Utvrđeno je da odabrani sojevi pokazuju značajnu enzimsku aktivnost koja utječe na stvaranje aroma i modulaciju lipidnog profila. Primjena ovih kvasaca povećava proizvodnju ključnih hlapljivih spojeva poput terpena i estera, a sekvencijalne fermentacije dovode do promjena u metabolizmu masnih kiselina i aromatskih aminokiselina. Rezultati potvrđuju važnost autohtonih ne-*Saccharomyces* kvasaca za unapređenje složenosti i kvalitete vina.

Literatura korištena u ovom radu obuhvaća relevantna i najnovija znanstvena saznanja iz područja istraživanja.

Prilog 1 obuhvaća četiri znanstvena rada koji su tematski i sadržajno međusobno povezani te zajedno čine cjelovitu znanstvenu osnovu disertacije. Radovi su raspoređeni u logičkom slijedu, a njihovi rezultati su u istom redoslijedu analizirani i komentirani u poglavlju Rasprava. Svaki rad detaljno prikazuje provedena istraživanja, uključujući opis eksperimentalnog pristupa, prikaz dobivenih rezultata i njihovu znanstvenu interpretaciju u kontekstu postojećih saznanja.

Znanstveni rad br.1

Milanović, V., Cardinali, F., **Boban, A**., Gajdoš Kljusurić, J., Osimani, A., Aquilanti, L., Garofalo, C., Budić-Leto, I. (2023) White grape variety Maraština as a promising source of non-*Saccharomyces* yeasts intended as starter cultures. *Food Bioscience* **55**, 103033.

Cilj ovog rada bio je izolirati i karakterizirati autohtone ne-*Saccharomyces* kvasce iz sorte Maraština te procijeniti njihov enološki potencijal u svrhu primjene kao starter kultura u alkoholnoj fermentaciji. Posebna pažnja posvećena je evaluaciji enzimske

karakterizacije koja je važna za razvoj arome. U istraživanju su kao posebno aktivni identificirani sojevi *Hyp. pseudoburtonii* N-11, *M. sinensis/shanxiensis* P-7 i *H. pseudoguilliermondii* V-13 zbog pojačane aktivnosti esteraze, dok su vrste roda *Hanseniaspora* pokazale izraženu proteolitičku i *β*-glukozidaznu aktivnost, ključnu za metabolizam aromatskih aminokiselina. Analiza je pokazala da enzimski profil više ovisi o rodu nego o vrsti, pri čemu su *Metschnikowia* i *Hanseniaspo*ra jasno odvojile. Zaključno, sorta Maraština predstavlja vrijedan izvor potencijalno korisnih ne-*Saccharomyces* kvasaca koji bi mogli doprinijeti razvoju starter kultura specifičnih za podneblje. Ovim radom potvrđena je prva hipoteza da autohtoni ne-*Saccharomyces* kvasci izolirani iz sorte grožđa Maraština sadrže različite egzogene enzime koji utječu na oslobađanje spojeva arome iz grožđa tijekom alkoholne fermentacije.

Druga hipoteza koja glasi: „Autohtoni ne-*Saccharomyces* kvasci izolirani iz sorte grožđa Maraština proizvode metabolite u fermentaciji koji doprinose poboljšanju arome vina“ potvrđena je kroz preostala tri znanstvena rada.

Znanstveni rad br. 2

Boban, A., Vrhovsek, U., Carlin, S., Milanović, V., Gajdoš Kljusurić, J., Jurun, Z., Budić-Leto, I. (2024) The effect of indigenous non-*Saccharomyces* yeasts on the volatile profile of Maraština wine: Monoculture versus sequential fermentation. *Applied Food Research* **4**, 100554.

Ovaj rad imao je za cilj istražiti kako različiti autohtoni ne-*Saccharomyces* kvasci utječu na hlapljivi profil vina Maraština kada se koriste samostalno ili u sekvencijalnoj fermentaciji sa *S. cerevisiae*. Korištena je ciljana GC-MS analiza kako bi se utvrdile razlike u koncentraciji terpena, norizoprenoida, estera, viših alkohola, hlapljivih kiselina, hlapljivih fenola, aldehida, ketona i laktona između dvije različite fermentacijske prakse. Rezultati su pokazali da sojevi poput *Metschnikowia pulcherrima* K-6 i *Hanseniaspora guilliermondii* N-29 potiču povećanu proizvodnju ključnih aroma, poput terpena i C13-norisoprenoida, značajno oblikujući mirisne karakteristike vina Maraština. Sojevi *Pichia kluyveri* Z-3 i *Starmerella apicola* VP-8 dominirali su u proizvodnji estera, dok su *M. chrysoperlae* K-11 i *M. sinensis/shanxiensis* P-7 smanjili sadržaj hlapljivih fenola povezanim s neželjenim „Brett“ aromama. Sekvencijalne fermentacije s *P. kluyveri* Z-3 rezultirale su povišenim koncentracijama ukupnih estera, *a H. guilliermondii* N-29 i P. *kluyveri* Z-3 pridonijeli su višim koncentracijama 2-feniletanola i *cis*-3-heksenola. Istraživanje je također potvrdilo da je proizvodnja hlapljive kiseline svih ispitivanih kvasaca unutar prihvatljivih granica, uz povećanu proizvodnju mliječne kiseline u usporedbi s kontrolnom fermentacijom *S. cerevisiae* EC 1118.

Znanstveni rad br. 3

Boban, A., Vrhovsek, U., Masuero, D., Milanović, V., Budić-Leto, I. (2025) Effect of indigenous non-*Saccharomyces* yeasts on lipid compositions of Maraština Wine. *Foods* **14**, 269.

Cilj ovog istraživanja bio je procijeniti utjecaj autohtonih ne-*Saccharomyces* kvasaca na lipidni sastav vina Maraština, važan za fermentacijske procese i aromatični profil vina. Utvrđeno je da sojevi poput *Lachancea thermotolerans* P-25, *Hanseniaspora* spp. i *Pichia kluyveri* Z-3 značajno smanjuju koncentracije određenih zasićenih i nezasićenih masnih kiselina, što poboljšava fluidnost stanične membrane i otpornost na fermentacijski stres. Promjene u lipidnom sastavu povezane su s povećanom proizvodnjom estera važnih za kvalitetu vina. Različiti sojevi pokazuju specifične obrasce iskorištavanja lipida i različite reakcije na stres etanola, što dodatno utječe na fermentacijski tijek i hlapljivi profil vina. Ovi rezultati naglašavaju značaj autohtonih ne-*Saccharomyces* kvasaca u modulaciji aroma i stabilnosti vina.

Znanstveni rad br. 4

Boban, A., Vrhovsek, U., Anesi, A., Milanović, V., Gajdoš Kljusurić, J., Jurun, Z., Budić-Leto, I. (2024) Modulation of Aromatic Amino Acid Metabolism by indigenous non-*Saccharomyces* Yeasts in Croatian Maraština Wines. *Foods* **13**, 2939.

U ovom radu istraživan je utjecaj različitih autohtonih ne-*Saccharomyces* kvasaca na metabolizam aromatskih aminokiselina

(fenilalanina, tirozina i triptofana) tijekom fermentacije vina sorte Maraština. Korištene su ciljane metabolomičke analize za detekciju spojeva povezanih s putevima razgradnje tih aminokiselina, koji značajno doprinose kompleksnosti aroma i potencijalnim bioaktivnim svojstvima vina. Utvrđeno je da sojevi poput *Hanseniaspora guilliermondii* N-29 i *Metschnikowia pulcherrima* K-6 moduliraju produkciju triptofola i kinurenske kiseline, spojeva koji se povezuju s voćnim notama i mogućim zdravstvenim učincima. Non-*Saccharomyces* kvasci pokazali su složene metaboličke puteve, pri čemu monokulture bolje metaboliziraju triptofan, a neki sojevi smanjuju razine fenilalanina i tirozina, čime povećavaju koncnetracije prekursora arome. *Metschnikowia pulcherrima* K-6 istaknula se povećanom proizvodnjom triptofola, dok je *Hyp. pseudoburtonii* N-11 izolat doprinio povećanju koncentracije estera. Dobiveni rezultati ukazuju na značajan potencijal ovih kvasaca u kreiranju vina s poboljšanim kvalitetama.

Prilog 2 sadrži tri dodatne tablice koje prikazuju proširene rezultate istraživanja i pridonose boljem razumijevanju dobivenih podataka te donošenju zaključaka. Prva tablica prikazuje semi-kvantitativnu evaluaciju enzimske aktivnosti deset odabranih autohtonih ne-*Saccharomyces* izolata, dok druga prikazuju lipidni sastav grožđa sorte Maraština. Treća tablica odnosi se na analizu koncentracija aminokiselina (triptofan, fenilalanin i tirozin) te njihovih međuprodukata u fermentacijama monokulture svih deset kvasaca. Rezultati iz ovih tablica su detaljno komentirani u odjeljku Rasprava te omogućuju dublju interpretaciju mehanizama djelovanja kvasaca na hlapljivi i nehlapljivi profil vina sorte Maraština.

Zaključno, ovaj doktorski rad potvrđuje postavljene hipoteze i jasno opravdava ciljeve istraživanja, istovremeno donoseći značajan znanstveni doprinos u razumijevanju enološkog potencijala autohtonih ne-*Saccharomyces* kvasaca koji su po prvi put izolirani iz sorte Maraštine. Doktorski rad je razjasnio utjecaj autohtonih ne-*Saccharomyces* kvasaca na sortni i fermentacijski profil mladoga vina Maraština.

Mišljenje i prijedlog:

Na temelju provedenog ocjenjivanja, Povjerenstvo za ocjenu doktorskog rada smatra da je doktorski rad pristupnice Ane Boban, mag. chem., izrađen u skladu s postavljenim hipotezama, ciljevima i obrazloženjem prijavljene teme. Rezultati ovog doktorskog istraživanja predstavljaju značajan znanstveni doprinos u području vinarstva.

Pristupnica je rezultate prikazala jasno i sustavno, a provedene analize i rasprava doveli su do logičnih i dobro potkrijepljenih zaključaka. Provedeno istraživanje donosi nove spoznaje o enzimskim aktivnostima autohtonih ne-*Saccharomyces* kvasaca i njihovu utjecaju na proizvodnju hlapljivih i nehlapljivih spojeva tijekom alkoholne fermentacije. Rezultati dodatno doprinose razumijevanju načina na koji ovi izolati mogu utjecati na svojstva vina, potvrđujući njihov potencijal u unaprjeđenju kvalitete mladih vina. Statistička analiza i detaljna interpretacija podataka jasno definiraju specifične doprinose pojedinih sojeva kvasaca. Ovim istraživanjem značajno se obogaćuje znanstvena literatura o biotehnološkoj valorizaciji autohtonih kvasaca te se pruža uvid u potencijalne nove starter kulture ne-*Saccharomyces* kvasaca.

Na temelju svega navedenog, predlaže se Fakultetskom vijeću Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta da se doktorski rad Ane Boban pod nazivom „Impact of indigenous non-*Saccharomyces* yeasts on the aroma profile of young wine from 'Maraština' cv. (*Vitis vinifera* L.)“ (Utjecaj autohtonih kvasaca koji ne pripadaju rodu *Saccharomyces* na profil arome mladoga vina sorte ‘Maraština’ (*Vitis vinifera* L.)) prihvati i uputi na daljnji postupak za stjecanje akademskog stupnja doktora znanosti iz znanstvenog područja Biotehničke znanosti, znanstvenog polja Prehrambena tehnologija.

Izdvojeno mišljenje *(samo ako netko od članova Povjerenstva za ocjenu rada ima izdvojeno mišljenje)***:**

Potpis

(ime i prezime člana povjerenstva)

Napomena *(po potrebi)*

	Ime i prezime, titula, ustanova, država	**Potpis**
Potpisi članova Povjerenstva za ocjenu doktorskoga rada[3]:	1. prof.dr.sc. Karin Kovačević Ganić, Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Hrvatska *(predsjednik Povjerenstva)*	
	2..prof.dr.sc. Jasenka Gajdoš Kljusurić, Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Hrvatska	
	3..izv.prof.dr.sc. Vesna Milanović, Odjel za poljoprivredne, prehrambene i okolišne znanosti, Politehničko sveučilište Marche, Italija	
	4../	
	5../	
	6../	
	7../	

U **Zagrebu**, 29. svibnja 2025.

[3] 6. i 7. član povjerenstva dopušteni su samo u slučaju dvojnog doktorata