

## ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Наташа Настић, мастер инж. технол.

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b>
1. Датум и орган који је именовao комисију  <b>12.11.2019. године, Наставно-научно веће Технолошког факултета Нови Сад, Универзитет у Новом Саду.</b>
2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:  - <b>Др Јелена Владић</b> , научни сарадник, Фармацеутско инжењерство, 01.08.2018. године, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, председник; - <b>Др Јарослава Шварц-Гајић</b> , редовни професор, Прехрамбено инжењерство, 02.12.2016. године, Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, ментор; - <b>Др Даниела Шојић Меркулов</b> , ванредни професор, Аналитичка хемија, 01.03.2016. године, Природно-математички факултет у Новом Саду, Универзитет у Новом Саду, члан.
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b>
1. Име, име једног родитеља, презиме:  <b>Наташа, Миломир, Настић</b>
2. Датум рођења, општина, држава:  <b>22.10.1987. године, Задар, Република Хрватска</b>
3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив  <b>Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, Контрола квалитета, Мастер инжењер технологије</b>
4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија  <b>2012. година, Прехрамбено инжењерство</b>
5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: -
6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: -
<b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>
Оптимизација екстракционих поступака и карактеризација екстраката корена гавеза ( <i>Symphytum officinale</i> ), листа дуда ( <i>Morus nigra</i> ) и петелјки трешње ( <i>Prunus avium</i> )

#### **IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

Докторска дисертација кандидата Наташе Настић изложена је у седам поглавља:

1. Увод (стр. 1-3),
2. Општи део (стр. 4-53),
3. Експериментални део (стр. 54-62),
4. Резултати и дискусија (стр. 63-133),
5. Закључци (стр. 134-136),
6. Литература (стр. 137-169),
7. Прилози (стр. 170-187).

Докторска дисертација је написана на 187 нумерисаних страница А4 формата, са 57 слика, 14 табела и 378 литературна навода. Кључна документацијска информација је написана на српском и енглеском језику и приложена је на почетку докторске дисертације.

#### **V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

У **уводном делу** докторске дисертације објашњен је значај и место биљних ресурса, њихове карактеризације и примене како у фармацеутској индустрији, тако и у производњи дијететских суплемената и функционалне хране. Указано је на предност екстракције природних биоактивних једињења применом „зелених“ технологија и добијања производа стандардизованог високог квалитета, и смањења штетних утицаја на животну средину. Описано је место напредних аналитичких техника заснованим на течним хроматографским анализама у комбинацији са тандемском масеном спектрометријом у карактеризацији биљних екстраката. Даље су у оквиру уводног дела наведени циљеви и сврха истраживања корена гавеза, листа црног дуда и петелки трешње.

**Општи део** докторске дисертације обухвата шест потпоглавља. Прва три потпоглавља се односе на опис, карактеризацију, хемијски састав, употребу и деловање корена гавеза, листа дуда и петелки трешње. На основу прегледа досадашњих истраживања указано је на значај и актуелност истраживања ових биљних узорака.

У наредној целини у оквиру Општег дела дата је подела биолошки активних једињења из биљних матрикса. Дата је класификација фенолних једињења, терпеноида и липида, а указано је и на њихова фармаколошка, медицинска и биохемијска својства.

У петој целини су описане конвенционална чврсто-течна екстракција и савремене методе екстракције: убрзана, суперкритична екстракција и екстракција субкритичном водом. Објашњени су принципи поменутих техника екстракција, као и њихове карактеристике, предности и недостаци. Убрзана екстракција, екстракција угљеник (IV)-оксидом у суперкритичном стању и субкритичном водом су иновативне технике чијом применом под оптималним условима се обезбеђује висока селективност процеса уз избегавање употребе токсичних растварача. Описане су и комбиноване екстракционе технике, као начин превазилажења недостатака индивидуалних техника.

У последњем потпоглављу дате су теоријске основе високопритисне течне хроматографије са посебним освртом на масену спектрометрију и делове масеног спектрометра. Високопритисна течна хроматографија са тандемском масеном спектрометријом постала је приоритетна техника при одређивању ниских концентрација анализата у комплексним матриксама. На основу прегледа досадашњих истраживања, описана је и примена HPLC-MS у анализи узорака биљног порекла.

Поглавље **Експериментални део** обухвата опис материјала и уређаја који су коришћени у експерименталним испитивањима. Описани су поступци мацерације, убрзане екстракције, екстракције суперкритичним угљендиоксидом и субкритичном водом, као и одређивање оптималних процесних параметара. Дати су детаљни услови хроматографских техника (HPLC-ESI-TOF-MS и HPLC-ESI-QTOF-MS/MS) за одређивање састава екстраката корена гавеза, листа црног дуда и петелки трешње.

У поглављу **Резултати и дискусија** су приказани резултати до којих се дошло у овој докторској дисертацији. Резултати су прегледно дати у табелама, приказани на сликама и образложени на методолошки разумљив и прегледан начин. Приказ резултата прати задати циљ истраживања докторске дисертације. Први приказани резултати се односе на оптимизацију екстракционих техника корена гавеза, листа црног дуда и петелки трешње на основу приноса екстракције и садржаја укупних полифенолних једињења. Утицај сваког од испитаних параметара (растварач, температура, притисак, време екстракције, удео ко-растварача) на процес детаљно је дискутован. Посебно је анализиран утицај процесних параметара екстракције субкритичном водом (температура, притисак, време екстракције и брзина мешања) на садржај полифенолних једињења. Применом високопритисне течне хроматографије са масеном спектрометријом (HPLC-MS) идентификована су биолошки активна једињења у испитиваним екстрактима. Детаљнија хемијска карактеризација екстракта корена гавеза, листа црног дуда и петелки трешње је изведена применом HPLC-ESI-QTOF-MS/MS, при чему је идентификовано више од 27 нових једињења за сваки од анализираних узорака, појединачно. Ефикасност примењених техника екстракције је поређена мерењем површина пикова идентификованих једињења. Ефикасност екстракције је приказана за сваку технику екстракције при различитим оперативним условима за сва идентификована једињења.

**Закључци** у истоименом поглављу, јасно су и концизно изведени из резултата и дискусије.

У последњем поглављу **Литература**, наведено је 378 литературних навода по абecedном реду који су цитирани у докторској дисертацији. Избор литературе је изведен на основу актуелности и значаја за област истраживања којом се бави ова дисертација.

У поглављу **Прилози** су дате табеле које нису приказане у поглављу Резултати и дискусија.

## **VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ**

Радови проистекли из истраживања у оквиру рада на докторској дисертацији:

### **M21 – Рад у врхунском међународном часопису:**

**Nastić, N.,** Borrás-Linares, I., Lozano-Sánchez, J., Švarc-Gajić, J., Segura-Carretero, A. (2018): Optimization of the extraction of phytochemicals from black mulberry (*Morus nigra* L.) leaves. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 68, 282-292.

**Nastić, N.,** Lozano-Sánchez, J., Borrás-Linares, I., Švarc-Gajić, J., Segura-Carretero, A. (2019): New technological approaches for recovering bioactive food constituents from sweet cherry (*Prunus avium* L.) stems. Phytochemical Analysis, 1-12.

### **M33 – Саопштење са међународног скупа штампано у целини:**

**Nastić, N.,** Švarc-Gajić, J., Segura-Carretero, A., Borrás-Linares, I., Lozano-Sánchez, J. Identification of bioactive compounds in comfrey root extracts. 24<sup>th</sup> International Symposium on Analytical and Environmental Problems, 8-9 October, 2018, Szeged, Hungary, pp. 170-173.

### **M34 – Саопштење са међународног скупа штампано у изводу:**

**Nastić, N.,** Segura-Carretero, A., Lozano-Sánchez, J., Borrás-Linares, I., Švarc-Gajić, J. Extraction of *Morus nigra* leaves by different extraction techniques. The International Bioscience Conference and the 6<sup>th</sup> International PSU – UNS Bioscience Conference IBSC 2016, 19-21 September, 2016, Novi Sad, Serbia, pp. 226-227.

**Nastić, N.,** Segura-Carretero, A., Lozano-Sánchez, J., Borrás-Linares, I., Švarc-Gajić, J. Optimization of the extraction conditions for isolation of phenolic compounds from *Prunus avium* stems. The International Bioscience Conference and the 6<sup>th</sup> International PSU – UNS Bioscience Conference IBSC 2016, 19-21 September, 2016, Novi Sad, Serbia, pp. 224-225.

**Nastić, N.,** Segura-Carretero, A., Lozano-Sánchez, J., Borrás-Linares, Švarc-Gajić, J., Gaurina Srček, V.,

Radošević, K., Slivac, I., Cvetanović, A. Extraction of phenolic compounds from comfrey root by green techniques. *Natural Resources, Green Technology and Sustainable Development – Green/2*, 5-7 Oktober, 2016, Zagreb, Croatia, pp. 87.

Nastić, N., Švarc-Gajić, J., Segura-Carretero, A., Borrás-Linares, I., Lozano-Sánchez, J. Comparison of chemical profiles of sweet cherry stem extracts obtained by accelerated solvent and supercritical fluid extraction. 40<sup>th</sup> International Conference on Environmental & Food Monitoring, 19-22 June, 2018, Santiago de Compostela, Spain, pp. 265.

Nastić, N., Segura-Carretero, A., Švarc-Gajić, J., Borrás-Linares, I., Lozano-Sánchez, J. Chemical profile of *Morus nigra* extract obtained by pressurized hot water extraction. 48<sup>th</sup> International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques – HPLC 2019, 16-20 June, 2019, Milan, Italy.

## VII ZAKЉUČICI OДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

- У оквиру ове дисертације испитане су и поређене конвенционална (мацерација) и савремене (ASE, SFE и SWE) технике екстракције корена гавеза, листа црног дуда и петелјки трешње. Испитан је утицај најзначајнијих параметара екстракционих техника на хемијске профиле екстраката и принос циљних једињења.

- SWE је омогућила најефикаснију екстракцију полифенолних једињења корена гавеза, листа црног дуда и петелјки трешње.

- Оптимални услови SWE при којима је постигнут максималан садржај фенолних једињења у екстрактима корена гавеза су били температура од 130 °C, притисак од 60 bar, време екстракције од 20 мин и брзина мешања од 2 Hz. Остварени садржај укупних фенола при наведеним условима је износио 331,77±5,80 mg ЕГК/g дроге.

- Оптимални услови SWE при којима је постигнут максималан садржај фенолних једињења у екстрактима листа црног дуда су били температура од 130 °C, притисак од 60 bar, време екстракције од 40 мин и брзина мешања од 2 Hz. Остварени садржај укупних фенола при наведеним условима је износио 502,48±5,20 mg ЕГК/g дроге.

- Оптимални услови SWE при којима је постигнут максималан садржај фенолних једињења у екстрактима петелјки трешње су били температура од 80 °C, притисак од 40 bar, време екстракције од 30 мин и брзина мешања од 2 Hz. Остварени садржај укупних фенола при наведеним условима је износио 436,74±8,45 mg ЕГК/g дроге.

- QTOF-MS/MS анализом екстраката корена гавеза детектовано је укупно 62 једињења различитих хемијских класа, укључујући антрахиноне, органске, фенолне и масне киселине и њихове деривате. По први пут је у корену гавеза детектовано 53 једињења.

- HPLC-ESI-QTOF-MS/MS анализом екстраката листа црног дуда идентификовано је 34 нових једињења, од укупно 62 идентификованих једињења. Доминантна једињења у екстрактима листа црног дуда су биле фенолне киселине и деривати (гална киселина), флавоноиди и њихови деривати (изокерцитрин, рутин и каемпферол-3-О-глукозид), и масне киселине (линоленска и линолна киселина).

- HPLC-ESI-QTOF-MS/MS анализом екстраката петелјки трешње идентификовано је укупно 58 једињења, од којих је 27 једињења по први пут идентификовано у испитиваном матриксу. Тентативно идентификована једињења класификована су у три хемијске класе, фенолна једињења и деривате, масне киселине и деривате, као и терпене.

- Квантитативном анализом појединачних идентификованих једињења у екстрактима корена гавеза је закључено да се применом SWE, ASE и мацерацијом помоћу растварача на бази алкохола (метанолни и етанолни раствор) остварује највиши принос поларнијих једињења. Највећи број полифенолних једињења је био идентификован у SWE екстрактима при оптималним условима. Принос неполарних једињења је био виши применом SFE и мацерације ацетоном у трајању од 30 мин. Принос масних киселина је био највиши применом SFE уз 15%-тни етанол као ко-растварач на 150 bar. Највећи утицај на састав екстраката добијених применом различитих техника екстракције је испољио тип растварача.

- Ефикасност екстракције је посматрана за сва идентификована једињења листа црног дуда. Варијације у садржају екстрахованих полифенолних једињења листа црног дуда су у највећој мери зависиле од температуре екстракције и поларности растварача. SWE екстракција је показала очигледну предност у погледу екстракције фенолних киселина, док је ASE омогућила ефикасну

екстракцију при најкраћем времену. Очекивано, SFE је била најефикаснија при екстракцији неполарних једињења као што су масне киселине.

- Највиши принос фенолних киселина и деривата као што су хлорогенска, кафена, ферулна и *p*-кумаринска киселина у екстрактима петелки трешње је постигнут применом SWE, док се применом ASE постигао највиши принос флавоноида и њихових деривата. Приноси фенолних једињења у екстрактима добијеним применом 50, 85 и 100%-тног етанола су били виши у поређењу са онима добијеним применом 15%-тног етанола. Највиши принос фенолних једињења применом ASE је био постигнут на температури од 40 °C. SFE екстракцијом је добијен највиши принос масних киселина (линоленска, лиолна и хидрокси-октадекадиенска киселина). ASE је испољила велику селективност према терпеноидним једињењима, међутим принос појединачних терпена је био виши у екстрактима добијеним применом SFE.

- Дефинисани оптимални услови екстракције корена гавеза, листа црног дуда и петелки трешње применом различитих екстракционих техника имају значајан допринос у експлоатацији ових матрикса и производњи функционалних екстраката који могу наћи примену у дизајнирању нових фармацеутских, козметичких и прехранбених производа.

- Новоидентификована једињења у корену гавеза, листу црног дуда и петелкама трешње пружају вредне информације о хемијском саставу ових матрикса, омогућавајући разумевање биолошког потенцијала и разјашњавање механизма дејства.

### **VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА**

Резултати истраживања докторске дисертације кандидата Наташе Настих су јасно и прегледно приказани, табеларно и у виду графикана. Сваки табеларни и графички приказ резултата поткрепљен је детаљном дискусијом добијених резултата, уз поређење са релевантним литературним подацима. Закључци су изведени коректно у складу са добијеним резултатима и дискусијом. Сходно томе, Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачења резултата истраживања.

### **IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

Докторска дисертација је написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Докторска дисертација садржи све неопходне елементе за разумевање обрађене теме и добијених резултата.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Традиционална примена корена гавеза, листа црног дуда и петелки трешње указује на њихов велики биолошки потенцијал. У том смислу, постојала је оправдана потреба за идентификацијом и детаљном карактеризацијом биолошки активних једињења у анализираним узорцима. Дисертација представља вишеструки оригиналан допринос науци јер су систематичним приступом испитане и поређене различите екстракционе технике које се могу применити у експлоатацији корена гавеза, листа дуда и петелки трешње. Оптимизација савремених екстракционих техника је од великог значаја за развој технолошких поступака изоловања биоактивних једињења на полуиндустријском и индустријском нивоу, примењивих у прехранбеној, фармацеутској и козметичкој индустрији. Велики научни допринос дисертације огледа се и у детаљној хемијској карактеризацији добијених екстраката применом високопритисне течне хроматографије са тандемском масеном спектрометријом идентификујући укупно 114 нових једињења у узорцима корена гавеза, листа црног дуда и петелки трешње. Идентификација нових биоактивних једињења различитих хемијских класа применом најсавременијих аналитичких поступака, представља огроман аналитички изазов и даје значајан допринос хемији природних једињења. Природна биоактивна једињења могу послужити као модели у развоју нових производа усавршених карактеристика, као што су дијететски суплементи, додаци исхрани и козметички производи.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања
Недостаци нису уочени у овој докторској дисертацији.
<b>X ПРЕДЛОГ:</b>
На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:
Полазећи од позитивне оцене докторске дисертације Наташе Настић, мастер инж. технол., под називом „Оптимизација екстракционих поступака и карактеризација екстраката корена гавеза ( <i>Symphytum officinale</i> ), листа дуда ( <i>Morus nigra</i> ) и петелки трешње ( <i>Prunus avium</i> )“, Комисија предлаже да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана овог рада.

У Новом Саду, 09.12.2019. године

#### ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

---

Председник

**др Јелена Владић**, научни сарадник

Технолошки факултет Нови Сад

---

Члан - ментор

**др Јарослава Шварц-Гајић**, редовни професор

Технолошки факултет Нови Сад

---

Члан

**др Даниела Шојић Меркулов**, ванредни професор

Природно-математички факултет

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.