

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ
Весна Новаков, спец. инж. технол.

01 ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовео комисију</p> <p>05.07.2019. године, на 35. седници Наставно-научног већа Технолошког факултета Нови Сад Универзитета у Новом Саду.</p> <p>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:</p> <p>др Снежана Кравић, ванредни професор, Технолошко-инжењерске хемије, 01.08.2017., Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, председник</p> <p>др Јарослава Шварц-Гајић, редовни професор, Прехрамбено инжењерство, 02.12.2016., Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, ментор</p> <p>др Даниела Шојић Меркулов, ванредни професор, Аналитичка хемија, 01.03.2016., Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, члан</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме:</p> <p>Весна, Лазар, Новаков</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава:</p> <p>09.02.1971, Бечеј, Република Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив</p> <p>Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, Фармацеутско инжењерство, Дипломирани инжењер технологије</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија</p> <p>2011/2012. школске године, Прехрамбено инжењерство</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране:</p> <p>-</p> <p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука:</p> <p>-</p> <p>7. Назив факултета, назив специјалистичког рада, научна област и датум одбране:</p> <p>Технолошки факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, Одређивање витамина Б2 хронопотенциометријском стрипинг анализом у чајном пециву, Примењена хемија, 07.07.2010.</p>

III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Карактеризација екстраката петелки вишне (*Prunus cerasus* L.) и трешње (*Prunus avium* L.) добијених субкритичном водом

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Докторска дисертација кандидаткиње Весне Новаков прегледно је изложена у шест поглавља:

1. Увод (стр. 1-3);
2. Теоријски део (стр. 4-101, 43 слика, 22 табеле);
3. Експериментални део (стр. 102-120, 6 слика);
4. Резултати и дискусија (стр. 121-160, 8 слика, 7 табела);
5. Закључци (стр. 161-164);
6. Литература (стр. 165-212).

Дисертација је написана на 212 нумерисаних страна А4 формата, садржи 57 слика и 29 табела. Цитирано је 535 литературних навода, а на почетку су дате кључне документацијске информације са кратким изводом на српском и енглеском језику.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У **уводном делу** докторске дисертације се наводи да био-отпад, као што су петелке, листови, љуска, кора и семе, често садржи биолошки активна једињења и друге вредне компоненте које се правилно одабраним технологијама могу издвојити. Биомаса данас, представља значајну полазну сировину за производњу биоенергије и биогорива. Указано је да су подаци који описују особине екстраката петелки вишне и трешње веома ретки, док се нарочито истиче недостатак података о својствима екстраката добијених субкритичном водом. На крају увода су описани предмет и циљ истраживања дисертације.

Теоријски део докторске дисертације обухвата теоријске основе и најновија научна сазнања у испитиваној области приказаних у неколико потпоглавља, односно целина. У оквиру прве целине (Трендови у валоризацији био-отпада) описује се отпад прехранбене индустрије, анимални отпад, отпад целулозно-папирне индустрије, шумски и комунални отпад. У другом потпоглављу (Нуспроизводи прераде вишне и трешње) пажња је посвећена распрострањености и производњи вишне и трешње, као привредно значајним сортама воћа у Србији. Поред тога, описана су биоактивна једињења идентификована у плодовима али и у другим деловима вишне и трешње, и указано је на могућност употребе коштица вишне и трешње за екстракцију уља, добијање активног угља и биогорива. У трећој целини (Биолошка активност природних једињења) указано је да су последњих деценија фармаколошка, медицинска и биохемијска својства фенолних једињења документована бројним радовима. Описана су својства фенолних једињења, посебно фенолних киселина и флавоноида, слободних радикала, механизам оксидативног стреса и липидне пероксидације. Описано је антимикубно, антидијабетско, неуропротективно и антимеланогено деловање фенолних једињења и објашњен њихов повољан утицај на гојазност и канцерогенезу. У претпоследњем потпоглављу (Екстракција) презентоване су теоријске основе екстракције водом у субкритичном стању. У последњем потпоглављу (Микроекстракционе технике) дате су теоријске основе микроекстракције са посебним освртом на микроекстракцију у капи, течном-фазну микроекстракцију на шупљем влакну и дисперзивно течном-течно микроекстракцију, као и основе о микроекстракцији на чврстој фази.

Поглавље **Експериментални део** садржи детаљан опис експерименталних процедура које су коришћене у раду. Описан је поступак екстракције субкритичном водом као и одређивање оптималних процесних параметара. Дати су детаљни услови хроматографских техника (HPLC–PDA и GC–MS уз DLLME поступак) које су биле примењене при анализи екстраката петелки вишне и трешње. Наведене су и детаљно објашњене методе за одређивање биолошке активности екстраката (*in vitro* антиоксидативна, антимикурна и антипролиферативна активност, као и активност инхибиције одабраних ензима (α -амилазе, α -

глукозидазе, ацетилхолинестеразе, бутирилхолинестеразе и липазе)).

У поглављу **Резултати и дискусија** су приказани и дискутовани резултати до којих се дошло у овој докторској дисертацији. Редослед приказаних резултата прати ток истраживања. Први приказани резултати се односе на оптимизацију екстракције петељки вишне и трешње субкритичном водом. Утицај сваког од испитаних параметара (однос дрога:растварач, температура, притисак, време екстракције, брзина мешања) на процес детаљно је дискутован. Применом високоперформансне течне хроматографије са детектором са низом фотодиода (HPLC–PDA) идентификоване су фенолне киселине и флавоноиди у испитиваним екстрактима, при чему се екстракт петељки трешње карактерисао вишим садржајем поменутих једињења у односу на екстракт петељки вишне. Детаљнија хемијска карактеризација екстракта петељки је изведена применом гасне хроматографије са масеном спектрометријом (GC–MS), уз дериватизацију. У воденим екстрактима су била присутна једињења различите поларности и тиме је потврђена способност субкритичне воде, као екстрагенса, да екстрахује различите класе хемијских једињења. Хемијска карактеризација екстракта петељки вишне и трешње је изведена и применом DLLME (дисперзивна течностна микроекстракција) GC–MS. Екстракт петељки вишне је коришћен као модел систем за оптимизацију ефикасности DLLME протокола. На крају истраживања, у оквиру докторске дисертације, детаљно је испитана биолошка активност екстракта петељки вишне и трешње. У том смислу одређен је њихов антиоксидативни капацитет, антимикробни потенцијал, способност да делују као инхибитори одабраних ензима, као и антипролиферативни потенцијал.

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

У последњем поглављу **Литература**, наведено је 535 литературних навода који су цитирани у докторској дисертацији. Избор литературе је извршен на основу актуелности и значаја за област истраживања којом се бави ова дисертација.

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

1. Švarc-Gajić, J., Cerdà, V., Clavijo, S., Suárez, R., Mašković, P., Cvetanović, A., Delerue-Matos, C., Carvalho, A.P., **Novakov, V.** (2018). Bioactive compounds of sweet and sour cherry stems obtained by subcritical water extraction, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **93**, 1627-1635.

M34 – Саопштење са међународног скупа штампано у изводу

1. Nastić, N., Srček, V.G., Radošević, K., Slivac, I., Cvetanović, A., **Novakov, V.**, Švarc-Gajić, J. (2017). *In vitro* screening of anticarcinogenic properties of cherry stem extracts obtained by subcritical water, *10th Joint Meeting on Medicinal Chemistry*, Book of abstracts, June 25-28, Dubrovnik, Croatia.
2. Nastić, N., Švarc-Gajić, J., Mašković, P., **Novakov, V.** (2018). *In vitro* anticarcinogenic properties of fruit by-products, *UNIFood Conference*, 5-6. Oktobar, Beograd, Srbija.

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

- Оптимизација екстракције петељки вишне и трешње субкритичном водом изведена је на основу садржаја укупних фенола и флавоноида. Одређени оптимални услови за екстракцију субкритичном водом подразумевали су однос дрога:растварач 1:90, температуру 150 °С,

притисак 20 bar, време екстракције 30 min и брзину мешања 3 Hz.

- Анализа фенолног састава екстраката изведена је применом HPLC–PDA методе. Идентификоване су фенолне киселине и флавоноиди, при чему је гална киселина била доминантно једињење у оба узорка. Њен садржај у екстрактима петелки вишње и трешње је износио 36,93 и 85,39 mg/l, редом.
- Детаљнији хемијски састав екстраката петелки вишње и трешње добијених субкритичном водом изведен је применом гасне хроматографије са масеном спектрометријом, уз дериватизацију применом два различита протокола припреме узорака. У воденим екстрактима су идентификована једињења различите поларности што је указало на могућност субкритичне воде да екстрахује различите хемијске класе. У узорцима су детектовани полиоли, засићене и незасићене дуголанчане и средњеланчане масне киселине, органске киселине, мономерни шећери и друга органска једињења.
- Применом оптимизованог протокола дисперзивне течностно-течно микроекстракције и гасно-хроматографске анализе уз масено-спектрометријску детекцију, нису установљене значајније разлике у хемијском саставу екстраката петелки вишње и трешње добијених субкритичном водом. У оптимизованом DLLME протоколу угљен-тетрахлорид је коришћен као екстракционо, а ацетон као дисперзно средство. Оба екстракта су се одликовала значајним садржајем биоактивних фенолних једињења, алдехида и деградационих продуката лигнина. У екстракту петелке трешње, за разлику од вишње, утврђено је присуство пидеола, *p*-анисинске и 2-хексеноинске киселине поред осталих једињења.
- Биолошка активност екстраката петелки вишње и трешње је утврђена испитивањем њихове антиоксидативне, антирадикалске, антимицробне и антипролиферативне активности, као и способности инхибиције одређених ензима.
- Применом десет различитих тестова, на основу којих су посматрани различити механизми антиоксидативног деловања, испитивани екстракти петелки обе *Prunus* врсте су показали знатан антиоксидативни потенцијал. У већини тестова екстракт петелки трешње је испољио мало потентније антиоксидативно деловање у односу на екстракт петелке вишње, што је корелирало са садржајем фенола у узорцима.
- Антимицробна активност екстраката одређена је за осам микробних линија, а добијене вредности су упоређене са вредностима стандардних антибиотика, амрацина и нистатина. Одређене минималне инхибиторне концентрације (MIC) су се кретале у границама од 19,53 до 625 µg/ml. Екстракт петелке вишње је у поређењу са екстрактом петелке трешње показао већу активност према Грам-негативним бактеријама *Escherichia coli* и *Proteus mirabilis* као и гљивици *Aspergillus niger*. Екстракт је демонстрирао значајну активност према *Aspergillus niger* са MIC вредношћу од 39,1 µg/ml, што је одговарало активности стандардног антимицотика нистатина. Екстракт петелке трешње је испољио већу активност према бактеријским линијама *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* и *Proteus vulgaris* у односу на екстракт петелке вишње. Екстракт петелке трешње је показао највећи степен активности према *Staphylococcus aureus* и *Proteus vulgaris* са MIC вредностима у износу од 19,53 µg/ml. Екстракт је испољио једнаку способност инхибирања раста поменутих микробних линија као и стандардни антибиотик амрацин.
- Антидијабетско деловање екстраката петелки је утврђено испитивањем способности инхибиције α-амилазе и α-глукозидазе. У случају α-амилазе добијене вредности инхибиторне концентрације су се кретале у опсегу од 0,14 до 0,20 mmol EA/g, док су у случају α-глукозидазе биле у опсегу од 0,61 до 0,87 mmol EA/g, што је указало на слабију антидијабетску активност екстраката. Екстракт петелке вишње је испољио потентније антидијабетско деловање у односу на екстракт петелке трешње.
- Антимеланогено деловање екстраката петелки је утврђено испитивањем способности инхибиције тирозиназе. Способност екстраката петелки да инхибирају тирозиназу је била дефинисана еквивалентом којичне киселине који се кретао у опсегу од 3,75 до 4,34 mg ЕКК/g. Оба екстракта су испољила значајну антимеланогену активност, при чему су се и у овом случају петелке вишње одликовале већом способношћу инхибирања ензима.
- Неуропротективно деловање екстраката петелки је утврђено испитивањем способности инхибиције ацетилхолинестеразе и бутирилхолинестеразе. Заједничко за испитиване екстракте петелки јесте да су показали способност инхибиције ацетилхолинестеразе (AChE), али не и бутирилхолинестеразе. Екстракт петелке вишње је испољио незнатно већи степен инхибиције AChE (1,13 mg EGALA/g) у односу на екстракт петелке трешње (1,05 mg EGALA/g).
- Антиатерогено деловање екстраката петелки је испитано одређивањем способности инхибиције панкреасне липазе. Екстракти петелки обе *Prunus* врсте нису показали

<p>активност према липази.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Антипролиферативна активност екстраката петелки је испитана на хуманим ћелијским линијама рака цервикса (Her2c) и рабдомиосаркома (RD) као и на мишијој туморској фибробластној линији са трансфектованим хуманим генима (L2OB). Испитани екстракти су показали високу антипролиферативну активност према одабраним туморским ћелијама. Добијене IC₅₀ вредности за екстракте су биле у опсегу од 8,38 до 11,40 µg/ml. Her2c ћелијске линије су се показале као осетљивије на дејство екстраката петелке вишње (IC₅₀ = 8,38 µg/ml) него L2OB (IC₅₀ = 9,69 µg/ml) и RD (IC₅₀ = 11,40 µg/ml) ћелијске линије. Екстракт петелке трешње је испољио највећу антипролиферативну активност према L2OB ћелијама (8,87 µg/ml). Концентрације овог екстракта неопходне да инхибирају 50% ћелијског раста за RD и Her2c ћелије су износиле 10,55 и 10,65 µg/ml, редом.
<p>VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА</p>
<p>Резултати истраживања докторске дисертације су приказани прегледно и систематично, објашњени и повезани са литературним сазнањима. Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачења резултата истраживања.</p>
<p>IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:</p>
<p>1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме</p> <p>Докторска дисертација је у потпуности написана у складу са планом и образложењем наведеним у Пријави теме.</p>
<p>2. Да ли дисертација садржи све битне елементе</p> <p>Докторска дисертација садржи све елементе неопходне за разумевање обрађене теме и добијених резултата.</p>
<p>3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци</p> <p>Дисертација даје вишеструки оригинални допринос науци, почев од оптимизације екстракције петелки вишње и трешње субкритичном водом. Поступак екстракције водом у субкритичном стању би се могао применити на индустријском нивоу за добијање екстраката високог потенцијала.</p> <p>Научни допринос дисертације огледа се и у детаљном испитивању антиоксидативног, антимикробног и антипролиферативног потенцијала екстраката, као и способности инхибиције одабраних ензима, јер даје увид у могућности примене екстраката петелки <i>Prunus avium</i> и <i>Prunus cerasus</i> врсте у прехранбеним, козметичким и фармацеутским технологијама.</p> <p>Допринос науци се огледа и у оптимизацији дисперзивно течно-течне микроекстракције с циљем хемијске карактеризације екстраката петелки применом GC-MS. Дефинисани протокол припреме узорака омогућио је идентификацију различитих хемијских класа и једињења различите поларности у екстрактима петелки обе врсте. Хемијски профили екстраката петелки вишње и трешње добијених субкритичном водом су по први пут дефинисани у овој дисертацији. Научни допринос дисертације је управо у екстракцији овог био-отпада субкритичном водом, оптимизацији и дефинисању својстава таквих екстраката.</p>
<p>4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања</p> <p>Недостаци нису уочени у овој докторској дисертацији.</p>
<p>X ПРЕДЛОГ</p>
<p>На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:</p> <p>Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију Весне Новаков, спец. инж. технол., под насловом „Карактеризација екстраката петелки вишње (<i>Prunus cerasus</i> L.) и трешње (<i>Prunus avium</i> L.) добијених субкритичном водом“ и предлаже да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана.</p>

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

председник

др Снежана Кравић, ванредни професор
Технолошки факултет Нови Сад

ментор

др Јарослава Шварц-Гајић, редовни професор
Технолошки факултет Нови Сад

члан

др Даниела Шојић Меркулов, ванредни професор
Природно-математички факултет у Новом Саду

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.