

**UNIVERZITET U BEOGRADU  
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET  
NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU**

**Predmet:** Referat o urađenoj doktorskoj disertaciji kandidata Aleksandre M. Bogdanović, master dipl. inž. tehnologije

Odlukom br. 35/272 od 26.05.2016. godine, imenovani smo za članove Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata Aleksandre M. Bogdanović pod naslovom **“Dobijanje, karakterizacija i optimizacija hipolipemijskih ekstrakata matičnjaka (*Melissa officinalis*) i grčkog semena (*Trigonella foenum-graecum*) natkritičnim ugljenik(IV)-oksidom”**

Posle pregleda dostavljene disertacije i drugih pratećih materijala i razgovora sa kandidatom, Komisija je sačinila sledeći

**R E F E R A T**

**1. UVOD**

1.1. Hronologija odobravanja i izrade disertacije

11.10.2011. Aleksandra M. Bogdanović, master dipl. inž. tehnologije upisuje doktorske studije na Katedri za organsku hemijsku tehnologiju Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, pod mentorstvom dr Slobodana Petrovića, redovnog profesora.

17.9.2015. Aleksandra M. Bogdanović je Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta predložila temu za izradu doktorske disertacije pod nazivom “Dobijanje, karakterizacija i optimizacija hipolipemijskih ekstrakata matičnjaka (*Melissa officinalis*) i grčkog semena (*Trigonella foenum-graecum*) natkritičnim ugljenik(IV)-oksidom”

22.10.2015. Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta odlukom br. 35/487 imenovana je Komisija za ocenu podobnosti teme i kandidata za izradu doktorske disertacije.

03.12.2015. Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta odlukom br. 35/538 usvojen je izveštaj Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata za izradu doktorske disertacije.

24.12.2015. Odlukom br. 61206-5646/4-15 Veće naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu daje saglasnost na predlog teme kandidata Aleksandra M. Bogdanović pod nazivom: “Dobijanje, karakterizacija i optimizacija hipolipemijskih ekstrakata matičnjaka (*Melissa officinalis*) i grčkog semena (*Trigonella foenum-graecum*) natkritičnim ugljenik(IV)-oksidom”.

26.05.2016. Odlukom br. 35/272 na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta imenuje se Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije Aleksandre M. Bogdanović, master dipl. inž. tehnologije, pod naslovom “Dobijanje, karakterizacija i optimizacija hipolipemijskih ekstrakata matičnjaka (*Melissa officinalis*) i grčkog semena (*Trigonella foenum-graecum*) natkritičnim ugljenik(IV)-oksidom”.

## 1.2. Naučna oblast disertacije

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnoj oblasti Hemijske nauke, uža naučna oblast Hemija, za koju je matičan Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu. Mentor ove doktorske disertacije, dr Slobodan Petrović, profesor emeritus Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, koji je na osnovu objavljenih publikacija i iskustva kompetentan za vođenje doktorske disertacije. Iz ove oblasti je do sada objavio 19 radova u časopisima sa SCI liste, rukovodio je do sada izradom 8 odbranih doktorskih disertacija i bio je član za ocenu i odbranu 36 disertacija.

## 1.3. Biografski podaci o kandidatu

Aleksandra M. Bogdanović, master dipl. inženjer tehnologije, rođena je 30.05.1987. godine u Novom Pazaru, gde je završila osnovnu i srednju školu. Diplomirala je na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu, studijska grupa Hemijsko inženjerstvo, odsek farmaceutsko inženjerstvo 2010. godine sa prosečnom ocenom 9,14 i ocenom 10 na završnom radu sa temom „Ekstrakcija biljnih ekstrakata (polifenola), inkapsulacija u alginatne čestice i praćenje otpuštanja polifenola“. Dobitnica je 2011 nagrade Srpskog Hemijskog Društva za istaknuti uspeh tokom osnovnih akademskih studija 2011. godine i tri nagrade „Panta Tutundžić“, za istaknuti uspeh tokom osnovnih akademskih studija.

Bila je na internacionalnoj praksi u Brazilu u trajanju od tri meseca od jula-oktobra 2010. godine, na UNICAMP Univerzitetu, Campinas-Sao Paulo, odsek hemijsko-inženjerstvo, saradnik na projektu- „Istraživanje ekstrakcionih procesa i dobijanja polimernih čestica u natkritičnim uslovima, u cilju dobijanja nanonosača“.

Master studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu, studijska grupa Hemijsko inženjerstvo, završila je 2011. godine sa prosečnom ocenom 9,88 i ocenom 10 na završnom-master radu sa temom „Razvoj metoda za kontrolu kvaliteta Dexasona i Bensedina HPLC-om“. Za vreme master studija bila je angažovana kao stručni saradnik u Kontroli Kvaliteta farmaceutske fabrike „Galenika a.d.“ od januara-decembra 2011. godine.

Doktorske studije, na matičnom fakultetu, upisuje na Katedri za organsku hemijsku tehnologiju pod mentorstvom redovnog profesora dr Slobodana Petrovića, na smeru Hemija, 2011. godine. Iste godine pohađala je kurs LLL Intensive Course „Supercritical Fluids – Green Solvents in Chemical Engineering“ organizovan od strane Evropske Federacije za Hemijsko Inženjerstvo.

Ispite predviđene planom i programom doktorskih studija položila je sa prosečnom ocenom 10. Završni ispit na doktorskim studijama pod nazivom „Dobijanje i karakterizacija hipolipemijskih ekstrakata natkritičnim ugljenik (IV)-oksidom“ položila je 25.9.2013. godine.

Aleksandra Bogdanović je od 4.01.2012. godine sa po 12 istraživačkih meseci angažovana na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije III45017 pod nazivom „Funkcionalni fiziološki aktivni biljni materijali sa dodatnom vrednošću za

primenu u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji“, rukovodioca projekta prof. I.Žižović, na Katedri za organsku hemijsku tehnologiju Tehnološko-metalurškog fakulteta. U zvanje istraživač pripravnik izabrana je decembra 2012. godine, a od 28.01.2015 izabrana je u istraživača saradnika. Aleksandra Bogdanović je učestvovala i u izradi eksperimentalnog dela brojnih završnih, master i diplomskih radova u periodu od 2011. godine do danas. Tokom angažovanja na projektu, objavila je kao prvi autor tri naučna rada u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21), jedno tehničko rešenje (M82), dva saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u celini (M33), dva saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34), tri saopštenja sa skupova nacionalnog značaja štampanih u izvodu (M64).

## **2. OPIS DISERTACIJE**

### 2.1. Sadržaj disertacije

Doktorska disertacija Aleksandre M. Bogdanović, master dipl. inž. pod nazivom “Dobijanje, karakterizacija i optimizacija hipolipemijskih ekstrakata matičnjaka (*Melissa officinalis*) i grčkog semena (*Trigonella foenum-graecum*) natkritičnim ugljenik(IV)-oksidom” napisana je na 201 strani, i sadrži Izvod (na srpskom i engleskom jeziku), Uvod u kome je definisan cilj doktorske disertacije (4 strane), Teorijski deo sa pregledom literature o oblastima koje su u vezi sa temom (60 strana), Eksperimentalni deo (29 strana), Rezultate i diskusiju (64 strane), Zaključak (4 strane), Literaturu (13 strana), Prilog (9 strana), Biografiju kandidata, Izjavu o autorstvu, Izjavu o istovetnosti štampane i elektronske verzije i Izjavu o korišćenju. Tekst disertacije sadrži 5 poglavlja, 47 slika, 26 tabela i 228 literaturnih navoda. Doktorska disertacija sadrži poglavlja: Uvod, Teorijski deo, Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Zaključak, kao i Literaturu. Po formi i sadržaju, napisana disertacija zadovoljava sve standarde Univerziteta u Beogradu za doktorsku disertaciju.

### 2.2. Kratak prikaz pojedinačnih poglavlja

U Uvodu je naveden značaj problematike proučavane u okviru doktorske disertacije. Prikazano je objašnjenje značaja primene fitopreparata u odnosu na sintetičke hipolipemike, za ublažavanje tegoba koje su pratioci sve zastupljenijeg problema današnjeg društva, kao posledice bržeg i nezdravog načina života -hiperholesterolemije. Hiperholesterolemija se manifestuje prisustvom visokog nivoa holesterola u krvi i niza metaboličkih poremećaja koje on uzrokuje po zdravlje ljudi širom sveta i koji vodi nizu sekundarnih oboljenja, naročito oboljenjima kardiovaskularnog sistema. Nekoliko tipova sintetičkih lekova se koriste za smanjenje nivoa holesterola, ali je tokom njihove višegodišnje primene primećeno više nedostataka, nepoželjnih pojava i sporednih efekata. Shodno tome, istaknuta je potreba za razvojem novih farmaceutskih preparata na bazi biljnih ekstrakata bogatih aktivnim komponentama sa hipolipemijskim dejstvom, njihovim dobijanjem, karakterizacijom i optimizacijom procesa dobijanja ovih komponenata. Matičnjak i grčko seme, kao biljke sa poznatom i interesantnom hipolipemijskom

aktivnošću su istraživane sa ciljem njihove efikasnije primene kod dobijanja farmaceutskih preparata- hipolipemika.

Teorijski deo se sastoji iz 8 podpoglavlja. Prvo podpoglavlje je posvećeno opisivanju pojave hiperholesterolemije, kao oblika metaboličkog poremećaja koji vodi nizu sekundarnih oboljenja. Opisano je tretiranje hiperholesterolemije sintetičkim lekovima, pri čemu je ukazano na niz neželjenih efekata povezano sa njihovom upotrebom. Predstavljena je primena biljaka kao potencijalnih hipolipemika i opisan je mehanizam hipolipemijske aktivnosti prirodnih jedinjenja. Drugo podpoglavlje je posvećeno antioksidativnoj aktivnosti prirodnih jedinjenja. Kroz treće podpoglavlje je dat prikaz osobina matičnjaka, njegov hemijski sastav, farmakološke aktivnosti sa hipolipemijskim mehanizmom delovanja. Četvrto podpoglavlje je sadržalo prikaz osobina grčkog semena, njegovu karakterizaciju, farmakološke aktivnosti sa detaljnim hipolipemijskim mehanizmom delovanja. U petom podpoglavlju su predstavljeni klasični postupci izolovanja bioaktivnih komponenti. Šesto podpoglavlje je posvećeno ekstrakciji bioaktivnih komponenti ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom, u subkritičnim i natkritičnim uslovima ekstrakcije. U sedmom podpoglavlju je prikazan mehanizam procesa i matematičko modelovanje natkritične ekstrakcije matičnjaka. U osmom podpoglavlju je opisana optimizacija natkritične ekstrakcije metodologijom centralno kompozitnog dizajna, analizom odzivnih površina.

U Eksperimentalnom delu su navedeni materijali i metode korišćeni u tezi. Detaljno su opisane metode ekstrakcije: hidrodestilacije, ekstrakcije organskim rastvaračem, kao i ekstrakcije ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom, u subkritičnim i natkritičnim uslovima. Opisana je DPPH metoda za određivanje antioksidantne aktivnosti ekstrakata kao i metode primenjene za određivanje hemijskog sastava dobijenih ekstrakata matičnjaka i grčkog semena - gasno-masena hromatografija (GC/MS) i tačna hromatografija visokih performansi (HPLC).

Deo Rezultati i diskusija se sastoji iz dva podpoglavlja. U prvom podpoglavlju su prikazani rezultati dobijanja ekstrakata matičnjaka hidrodestilacijom i ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom u subkritičnim i natkritičnim uslovima sa ciljem dobijanja ekstrakata sa visokim sadržajem komponentata sa potencijalnom hipolipemijskom aktivnošću. Prikazan je hemijski sastav dobijenih ekstrakata i predstavljena korelacija između različitih tehnika ekstrakcije i hemijskog sastava i prinosa dobijenih ekstrakata. Predstavljene su rezultati matematičkog modelovanja ekstrakcije matičnjaka ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom, objašnjavajući mehanizam ekstrakcionog procesa, kao i stepen dostupnosti komponentata iz biljnog materijala uz ukazivanje na selektivnost i afinitet subkritične i natkritične ekstrakcije na različitim uslovima. Antioksidativna aktivnost dobijenih ekstrakata matičnjaka omogućila je korelaciju između sastava bioaktivnih komponenti i tehnika i uslova ekstrakcija. U drugom podpoglavlju su prikazani rezultati dobijanja ekstrakata grčkog semena sa visokim sadržajem komponentata sa potencijalnim hipolipemijskim dejstvom, ekstrakcijom organskim rastvaračem i ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom u subkritičnim i natkritičnim uslovima. U okviru ovog podpoglavlja, definisani su i postupci: dobijanja ekstrakata sa visokim sadržajem diosgenina, zatim dobijanje ekstrakata sa visokim sadržajem sterola, vitamina E i vitamina D, i dobijanje ekstrakata sa visokim sadržajem nezasićenih masnih kiselina. U slučaju dobijanja ekstrakata sa visokim

sadržajem diosgenina iz grčkog semena, prikazan je značaj predtretmana semena, kako bi se izolovao diosgenin. Primenjena je metodologija centralno-kompozitnog dizajna (RSM/CCRD) analize uticaja procesnih parametara natkritične ekstrakcije na prinos totalnog ekstrakta i sadržaja diosgenina u istom. Rezultatima analize odzivnih površina, analize varijansi (ANOVA) omogućeno je određivanje uticaja procesnih parametara preko određenih koeficijenata na prinos diosgenina. Na osnovu primenjene analize odzivnih površina definisani su optimalni procesni uslovi za postizanje maksimalnih prinosa diosgenina iz grčkog semena, natkritičnom ekstrakcijom. Dobijanje ekstrakata sa visokim sadržajem sterola, vitamina E i vitamina D omogućeno je natkritičnom ekstrakcijom u širokim opsezima procesnih uslova, kao i u slučaju dobijanja ekstrakata sa visokim sadržajem diosgenina. RSM/CCRD analizom uticaja procesnih parametara na prinos sterola, vitamina E i vitamina D u dobijenim ekstraktima iz grčkog semena, definisani su optimalni uslovi za postizanje zajedničkih i pojedinačnih maksimalnih prinosa sterola, vitamina E i vitamina D. Sa ciljem da se objasni i razume molarna rastvorljivost totalnog ekstrakta i molskih udela sterola, vitamina E i vitamina D ( $\text{mol/mol}_{\text{CO}_2}$ ) na različitim uslovima natkritične ekstrakcije, kao i da se utvrđene zavisnosti koriste u prediktivne svrhe za neke druge uslove natkritične ekstrakcije, određivani su parametri rastvorljivosti komponenata ekstrakta dobijenog iz grčkog semena (triacilglicerola, sitosterola, tokoferola, i vitamina D<sub>3</sub>), kao i natkritičnog ugljenik(IV)-oksida. Poređena je rastvorljivost različitih grupa jedinjenja identifikovanih u ekstraktima dobijenim na različitim uslovima NKE. Ekstrakti sa visokim sadržajem nezasićenih masnih kiselina su dobijeni subkritičnom i natkritičnom ekstrakcijom grčkog semena. Predstavljena je korelacija između tehnika i uslova ekstrakcije i sastava i prinosa ekstrakata. Praćena je kinetika subkritične i natkritične ekstrakcije u cilju dobijanja ekstrakata sa bogatim sadržajem nezasićenih masnih kiselina.

U poglavlju Zaključak sumirani su najznačajniji rezultati i saznanja proistekli iz ove doktorske disertacije, sa akcentom na moguću industrijsku primenu.

U delu Literatura navedene su sve reference citirane u doktorskoj disertaciji.

### **3. OCENA DISERTACIJE**

#### 3.1. Savremenost i originalnost

Prirodne bioaktivne komponente sa snažnim hipolipemijskim dejstvom, su u samom vrhu naučnog interesovanja zbog tendencije zamene sintetičkih lekova u borbi sa sve zastupljenijom hiperholesterolemijom. Da bi se obezbedila efikasnija primena i upotreba ekstrakata sa komponentama nosiocima hipolipemijske aktivnosti, potrebno je sprovesti dodatna ispitivanja u pogledu izbora odgovarajućih ekstrakcionih tehnika, karakterizacije, optimizacije procesa i farmakološkog dejstva. Zbog toga se veliki naponi ulažu u cilju dobijanja i izolovanja prirodnih hipolipemika, kao i razvoja efikasnih i selektivnih tehnika ekstrakcije. Ekstrakciju konvencionalnim rastvaračima karakterišu niska selektivnost i visoke temperature, što može dovesti do degradacije željenih jedinjenja. Primenom natkritične ekstrakcije koja se odvija na

nižim temperaturama, sprečava se degradacija jedinjenja i dobija na kvalitetu ekstrakata shodno većoj koncentraciji komponenata sa željenim farmakološkim dejstvom. Natkritična ekstrakcija je mnogo selektivnija od konvencionalnih načina ekstrakcije. Selektivnost prema pojedinim grupama jedinjenja se postiže podešavanjem uslova ekstrakcije (temperature i pritiska). Usled lake i potpune separacije natkritičnog fluida smanjenjem pritiska, ovaj vid ekstrakcije omogućava dobijanje ekstrakata bez tragova rastvarača (npr. za primenu u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji). Proces ekstrakcije natkritičnim fluidima je proces u skladu sa principima zelene hemije u kojem se ne koriste organski rastvarači i ne generiše otpadna voda. Opsežnim pregledom najnovije naučne literature ustanovljeno je da istraživanja u okviru ove doktorske disertacije spadaju u veoma aktuelno polje istraživanja i uklapaju se u svetske trendove što potvrđuje značaj opisanih istraživanja. Ekstrakcijom ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom matičnjaka i grčkog semena dobijeni su ekstrakti sa visokim sadržajem komponenti sa potencijalnim hipolipemijskim dejstvom, a prema literaturnim navodima. Izvršena je karakterizacija dobijenih ekstrakata, pri čemu je profilnim sastavom ekstrakata i prinosom razmatran uticaj različitih ekstrakcionih tehnika, kao i širokog opsega procesnih uslova pri natkritičnoj ekstrakciji. Praćena je kinetika procesa i primenjeno matematičko modelovanje procesa ekstrakcije ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom u slučaju ekstrakcije matičnjaka. Analiza uticaja širokog opsega procesnih parametara natkritične ekstrakcije metodologijom odzivnih površina primenjena je u slučaju dobijanja ekstrakata sa visokim sadržajem diosgenina, kao i sterola, vitamina E i vitamina D iz grčkog semena. Analizom odzivnih površina, definisani su optimalni uslovi za postizanje maskimalnog prinosa diosgenina, kao i sterola, vitamina E i vitamina D iz grčkog semena.

### 3.2. Osvrt na referentnu i korišćenu literaturu

U doktorskoj disertaciji je dato 228 literaturnih navoda. Ovo potvrđuje aktuelnost izučavane problematike u svetu. Literatura obuhvata objavljene radove vezane za: hipolipemijsku aktivnost matičnjaka i grčkog semena, mehanizam dejstva bioaktivnih komponenata iz njihovih ekstrakata, antioksidativnu aktivnost, hemijske analize (GC/FID, GC/MS, HPLC), određivanje antioksidativne aktivnosti, procese ekstrakcije ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom u subkritičnim i natkritičnim uslovima, određivanja rastvorljivosti prirodnih komponenata u natkritičnim fluidima, matematičke modele za modelovanje procesa ekstrakcije sa ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom, kao i metode optimizacije primenom analize odzivnih površina (RSM/CCRD). Iz spiska korišćene literature i radova koje je kandidat objavio kao deo istraživanja ove doktorske disertacije, može se zaključiti da kandidat u potpunosti prati aktuelnosti u svetu i poznaje rezultate publikovane u oblastima koje pokriva ova doktorska disertacija.

### 3.3. Opis i adekvatnost primenjenih naučnih metoda

U doktorskoj disertaciji procesi ekstrakcije ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom u subkritičnim i natkritičnim uslovima iz matičnjaka i grčkog semena su izvedeni na laboratorijskom postrojenju za natkritičnu ekstrakciju. Hidrodestilacija i Sokslet ekstrakcija su izvođene u klasično literaturno propisanoj literaturi Klevendžer i Sokslet aparature.

Hemijski sastav ekstrakata matičnjaka i grčkog semena, dobijenih ekstrakcijom ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom u subkritičnim i natkritičnim uslovima, je određen GC/FID, GC/MS i HPLC metodama.

Antioksidativna aktivnost dobijenih ekstrakata matičnjaka je određena na UV/VIS spektrofotometru, i definisana DPPH standardnom metodom.

Matematički modeli koji su primenjeni u optimizaciji natkritične i subkritične ekstrakcije matičnjaka su pseudo-kinetički model Sovove, izvedeni u Matlab programu.

Modeli koji su korišćeni za analizu uticaja procesnih parametara i optimizaciju natkritične ekstrakcije grčkog semena su CCRD (central composite design) i RSM (response surface methodology) primenjeni su u programu Design-Expert.

### 3.4. Primenljivost ostvarenih rezultata

Na osnovu eksperimentalnih rezultata i objavljenih radova iz ove doktorske disertacije, može se zaključiti da je ostvaren značajan doprinos u oblasti primene natkritičnih fluida u svrhu dobijanja ekstrakata primenom ugušćenog ugljenik(IV)-oksida u subkritičnim i natkritičnim uslovima, iz matičnjaka i grčkog semena, sa visokim sadržajem bioaktivnih komponenata sa potencijalnim hipolipemijskim dejstvom. Na osnovu brojnih eksperimenata, razvijene su metode dobijanja: ekstrakata sa snažnim antioksidativnim dejstvom iz matičnjaka pri definisanim uslovima natkritične ekstrakcije uz objašnjenje i razumevanje procesa ekstrakcije i dostupnosti bioaktivnih komponenti pomoću matematičkog modelovanja, dobijanje ekstrakata sa visokim sadržajem diosgenina natkritičnom ekstrakcijom iz grčkog semena i definisanja optimalnih uslova za postizanje njegovog maksimalnog prinosa, dobijanje ekstrakata sa visokim sadržajem sterola, vitaminom E i vitaminom D iz grčkog semena natkritičnom ekstrakcijom sa definisanjem optimalnih uslova za postizanje njihovog pojedinačnog i zajedničkog maksimalnog prinosa, dobijanje ekstrakata sa visokim sadržajem nezasićenih masnih kiselina sa potencijalnom primenom u farmaceutskoj ili prehrambenoj industriji. Rezultati dobijeni u istraživanjima iz ove doktorske disertacije verifikovani su objavljivanjem radova u vodećim časopisima međunarodnog značaja i tehničkim rešenjem.

### 3.5. Ocena dostignutih sposobnosti kandidata za samostalni rad

Aleksandra M. Bogdanović, master dipl. inž. tehnologije, je tokom izrade doktorske disertacije pokazala stručnost i samostalnost u pretraživanju naučne literature, pripremi i organizaciji eksperimentalnog rada, obradi i analizi dobijenih podataka, diskusiji rezultata i pripremi publikacija. Na osnovu dosadašnjeg zalaganja i pokazane stručnosti, Komisija je

mišljenja da kandidat poseduje sve kvalitete koji su neophodni za samostalni naučno-istraživački rad.

## 4. OSTVARENI NAUČNI DOPRINOS

### 4.1. Prikaz ostvarenih naučnih doprinosa

Naučni doprinos rezultata istraživanja ostvarenih u ovoj doktorskoj disertaciji, a u oblasti primene natkritičnih fluida za dobijanje ekstrakata sa visokim sadržajem bioaktivnih komponenti sa potencijalnim hipolipemijskim dejstvom, ogleda se u sledećem:

- dobijanje ekstrakata iz matičnjaka i grčkog semena ekstrakcijom ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom u subkritičnim i natkritičnim uslovima, sa visokim sadržajem bioaktivnih komponentata sa potencijalnim hipolipemičnim dejstvom;
- određivanje parametara kinetike izolacije ekstrakata sa snažnim antioksidativnim dejstvom iz matičnjaka, ekstrakcijom ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom u subkritičnim i natkritičnim uslovima;
- definisanjem hemijskog sastava i antioksidativne aktivnosti dobijenih ekstrakata i etarskih ulja iz matičnjaka, razmatran je uticaj različitih tehnika ekstrakcije i procesnih uslova ekstrakcije ugušćenim ugljenik(IV)-oksidom u subkritičnim i natkritičnim uslovima;
- simulacija procesa ekstrakcije korišćenjem matematičkog modela u cilju izračunavanja parametara kojima se opisuje prenos mase u posmatranom procesu ekstrakcije i omogućava razumevanje procesa ekstrakcije;
- dobijanje ekstrakata sa visokim sadržajem diosgenina, komponentom sa poznatim hipolipemičnim dejstvom, primenom predtretmana odmaščivanja i hidrolize iz grčkog semena natkritičnom ekstrakcijom u širokom opsegu procesnih uslova;
- optimizacija procesa NKE diosgenina iz grčkog semena primenom metode odzivnih površina, analiziranjem uticaja širokog opsega procesnih parametara na prinos totalnog ekstrakta i diosgenina, definisanjem optimalnih uslova za postizanje maksimalnih prinosa diosgenina;
- dobijanje ekstrakata bogatih sadržajem sterola, vitaminom E i vitaminom D, iz grčkog semena primenom NKE u širokom opsegu primenjenih procesnih parametara;
- analizirani su uticaji širokog opsega procesnih parametara NKE na prinos totalnog ekstrakta, sterola, vitamina E i vitamina D, primenom metode odzivnih površina sa definisanim optimalnim uslovima za postizanje maksimalnih prinosa sterola, vitamina E i vitamina D;
- određivanjem Hildebrandovog parametra rastvorljivosti triacilglicerola, sterola, vitamina E i vitamina D i poređenjem sa parametrom rastvorljivosti NK CO<sub>2</sub> na različitim pritiscima i temperaturama, omogućeno je bolje razumevanje u razlici maksimalnih prinosa među različitim grupama ekstrahovanih jedinjenja na različitim uslovima NKE.
- određivanjem molarne rastvorljivosti totalnog ekstrakta i molarne rastvorljivosti sterola, vitamina E i vitamina D koji čine deo sastava ekstrakta, kao i određivanjem parametra X (uslovljenog gustinom NK CO<sub>2</sub>, temperaturom i Hildebrandovim parametrom SP\*(odnos Hildebrandovog parametra sterola, vitamina E i vitamina D i Hildebrandovog parametra NK CO<sub>2</sub>



pri različitim procesnim uslovima), omogućeno je bolje razumevanje i objašnjenje definisanih optimalnih vrednosti za maksimalan prinos totalnog ekstrakta, sterola, vitamina E i vitamina D po RSM i CCRD metodologiji analize.

-dobijanje ekstrakata bogatih nezasićenim masnim kiselinama iz grčkog semena, primenom subkritične i natkritične ekstrakcije na različitim procesnim uslovima, razmotren je uticaj različitih procesnih tehnika na prinos i profil nezasićenih masnih kiselina.

#### 4.2. Kritička analiza rezultata istraživanja

Istraživanja u okviru ove doktorske teze su pružila značajne rezultate i informacije o mogućnosti dobijanja ekstrakata iz matičnjaka i grčkog semena bogatih sadržajem bioaktivnih komponenata sa potencijalnim hipolipemijskim dejstvom. Po prvi put su poređeni procesi subkritične i natkritične ekstrakcije primenom ugljenik(IV)-oksida iz matičnjaka sa ciljem razmatranja uticaja različitih procesnih tehnika na prinos, sastav i antioksidativno dejstvo dobijenih ekstrakata, pri čemu je i modelovanje procesa primenjeno kako bi se razumeo sam proces ekstrakcije i objasnila dostupnost aktivnih komponenti. Razmatranje uticaja subkritične i natkritične ekstrakcije, je takođe prvi put primenjeno na prinos i profilni sastav ekstrakata dobijenih iz grčkog semena. Dobijanje ekstrakata sa visokim sadržajem diosgenina natkritičnom ekstrakcijom iz grčkog semena pri širokim opsezima procesnih uslova, kao i definisanje optimalnih uslova za postizanje njegovih maksimalnih prinosa je urađeno na originalan način, bez prethodnih literaturnih navoda. Takođe je izvedeno dobijanje ekstrakata sa visokim sadržajem sterola, vitamina E i vitamina D natkritičnom ekstrakcijom iz grčkog semena pri širokim opsezima procesnih uslova, kao i definisanje optimalnih uslova za postizanje njihovih maksimalnih prinosa, što nije zabeženo u dosadašnjoj literaturi. Sa ciljem da se objasni i razume molarna rastvorljivost totalnog ekstrakta i molskih udela sterola, vitamina E i vitamina D ( $\text{mol/molCO}_2$ ) na različitim uslovima natkritične ekstrakcije, određivani su parametri rastvorljivosti komponenata ekstrakta dobijenog iz grčkog semena (triacilglicerola, sitosterola, tokoferola, i vitamina D<sub>3</sub>), kao i natkritičnog ugljenik(IV)-oksida, a da se po prvi put utvrđene zavisnosti koriste u prediktivne svrhe za neke druge uslove natkritične ekstrakcije. Poređena je rastvorljivost različitih grupa jedinjenja identifikovanih u ekstraktima dobijenim na različitim uslovima NKE, čime je omogućeno bolje razumevanje u razlici maksimalnih prinosa među različitim grupama ekstrahovanih jedinjenja na različitim uslovima NKE .

#### 4.3. Verifikacija naučnih doprinosa

Kandidat Aleksandra M. Bogdanović je deo istraživanja iz ove doktorske disertacije verifikovala objavljivanjem u vrhunskim međunarodnim časopisima i na međunarodnim naučnim skupovima. Rezultati istraživanja su objavljeni kroz 3 rada u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21), jednim tehnološkim rešenjem, dva saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u celini (M33), dva saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34), tri saopštenja sa skupova nacionalnog značaja štampani u izvodu (M64):

##### Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21)

1. **A. Bogdanovic**, V. Tadic, M. Stamenic, S. Petrovic, D. Skala, Supercritical carbon dioxide extraction of *Trigonella foenum-graecum* L. seeds: Process optimization using response surface methodology, J. of Supercritical Fluids, 107 (2016) 44–50, IF= 2.371, ISSN 0896-8446
2. **A. Bogdanovic**, V. Tadic, I. Arsic, S. Milovanovic, S. Petrovic, D. Skala, Supercritical and High Pressure Subcritical Fluid Extraction from Lemon Balm (*Melissa officinalis* L., Lamiaceae), J. of Supercritical Fluids, 107 (2016), 234–242, IF= 2.371, ISSN 0896-8446
3. **A. Bogdanovic**, V. Tadic, M. Ristic, S. Petrovic, D. Skala, Optimization of supercritical CO<sub>2</sub> extraction of fenugreek seed (*Trigonella foenum-graecum* L.) and calculating of extracts solubility, J. of Supercritical Fluids, doi: 10.1016/j.supflu.2016.07.010, IF= 2.371, ISSN 0896-8446

##### Tehnička i razvojna rešenja, nova proizvodna linija, novi materijal (M82)

1. С. Ђорђевић, В. Тадић, И. Арсић, А. Жугић, Д. Мишић, С. Петровић, А. **Богдановић**, С. Наумовић, М. Станковић, И. Жижовић, „Развој новог производа-капсуле са хиполипемичким деловањем“, 2012, Институт “Јосиф Панчић”, ТМФ-Београд, Медицински факултет Ниш, прихваћено од стране Матичног одбора за биотехнологију и пољопривреду, 16.6.2015.

##### Saopštenje sa međunarodnih skupova štampano u celini (M33)

1. **A. M. Bogdanović**, V. M. Tadić, S.D. Petrović: “A comparative study: an impact of chosen extraction technique on active separation from *Trigonella foenum-graecum* L., Fabaceae and *Morus alba* L., Moraceae”, 14<sup>th</sup> International Conference , „Research and Development in Mechanical Industry“, RaDMI 2014, Book of Abstracts, Volume 1, pp. 790-796, 18-21 September, 2014, Topola, Serbia
2. **A. M. Bogdanović**, V. M. Tadić, S. D. Petrović, “Application of nke in use of hypolipemics“, 13<sup>th</sup> International Conference , „Research and Development in Mechanical Industry“, RaDMI 2013, Book of Abstracts, Volume 2, pp.747-752, 12-15 September, 2013, Kopaonik, Serbia

##### Saopštenje sa međunarodnih skupova štampano u izvodu (M34)

1. **A. Bogdanović**, S. Milovanović, V. Tadić, S. Petrović and I. Zizovic, Supercritical fluid extraction from Lemon Balm (*Melissa officinalis*), 6<sup>th</sup> International Symposium on High

Pressure Processes Technology, Belgrade, Serbia, September 8-11, 2013, EFCE Event NO. 708

2. V. Tadic, S. Djordjevic, A. Zugic, I. Arsic, **A. Bogdanovic**, I. Homsek (2013): "Sensitive HPLC Method for the Determination of Usnic Acid in Tablets", 5<sup>th</sup> International BBBB Conference, 26<sup>th</sup>-28<sup>th</sup> September, Athens, Eur J Pharm Sci 50, Supplement 1, PP142, PG 117, ISSN: 0928-0987

Saopštenje na skupu nacionalnog značaja štampano u izvodu (M64)

1. **A. M. Bogdanović**, M. Stamenić, Slobodan Petrović and V. Tadić, Optimization and isolation of steroid sapogenins from *Trigonella foenum-graecum* seeds L. for various process parameters of supercritical extraction, 52. Savetovanje Srpskog Hemijskog Društva, Novi Sad, 29. i 30. maj 2015. , zbornik apstrakta, str. 45
2. **A. M. Bogdanović** , V. Tadić, M. Ristić, S. D. Petrović, Unsaturated fatty acids from seeds of *Trigonella foenum-graceum* L. obtained by supercritical carbon (IV) oxide extraction using different process conditions, Treća Konferencija mladih hemičara, Beograd, 24.oktobar, 2015 god., zbornik apstrakata, str.45
3. **A. M. Bogdanović** , V. Tadić, M. Ristić, S. D. Petrović, D. Skala, Izolovanje i optimizacija sterola, vitamina E i vitamina D iz semena *Trigonella foenum-graceum* L. natkritičnom ekstrakcijom, 53. Savetovanje Srpskog Hemijskog Društva, Kragujevac, 10. i 11. jun 2016. , zbornik apstrakta, str. 47

## 5. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu prethodno izloženog Komisija smatra da doktorska disertacija kandidata Aleksandre M. Bogdanović, master dipl.inž. tehnologije., pod naslovom **“Dobijanje, karakterizacija i optimizacija hipolipemijskih ekstrakata matičnjaka (*Melissa officinalis*) i grčkog semena (*Trigonella foenum-graecum*) natkritičnim ugljenik(IV)-oksidom”** predstavlja originalni naučni doprinos dobijanju ekstrakata bogatih bioaktivnim komponentama sa potencijalnim hipolipemijskim dejstvom i definisanju optimalnih uslova za postizanje maksimalnih prinosa. Istraživanja u okviru ove disertacije pripadaju naučnoj oblasti Hemijskih nauka i užoj naučnoj oblasti Hemija, za koju je Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu matična ustanova. Imajući u vidu postignute rezultate i ostvareni naučni doprinos, Komisija predlaže Nastavno naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati ovaj izveštaj i da ga zajedno sa urađenom doktorskom disertacijom **Aleksandre M. Bogdanović**, master dipl. inž.tehnologije, učini dostupnim javnosti, a nakon toga pozove kandidata na usmenu odbranu pred Komisijom u istom sastavu.

U Beogradu, 31.08.2016.

### ČLANOVI KOMISIJE

Dr Slobodan Petrović, profesor emeritus  
Univerzitet u Beogradu Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Irena Žižović, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Vanja Tadić, naučni savetnik  
Institut za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“

Dr Jasna Ivanović, naučni saradnik  
Univerzitet u Beogradu Tehnološko-metalurški fakultet