

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ

ОБРАЗАЦ 6.

НАЗИВ ФАКУЛТЕТА ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

-обавезна садржина- свака рубрика мора бити попуњена

(сви подаци уписују се у одговарајућу рубрику, а назив и место рубрике не могу се мењати или изоставити)

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовао комисију 04.05.2012. Научно-наставно веће Технолошког факултета, Универзитета у Новом Саду - LXXIII редовна седница</p> <p>2. Састав комисије са знаком 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> <ul style="list-style-type: none"> • Др Јасна Чанадановић-Брунет, редовни професор, Примењене и инжењерске хемије, 15.05.2008. Технолошки факултет у Новом Саду; ментор • Др Соња Ђилас, редовни професор, Примењене и инжењерске хемије, 21.7.1998. Технолошки факултет у Новом Саду • Др Анамарија Мандић, научни сарадник, Технологија, квалитет и безбедност хране, 16.07.2008. Институт за прехранбене технологије у Новом Саду
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Јелена Јован Вулић</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 14.12.1982, Нови Сад, Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Технолошки факултет, Нови Сад, Конзервисана храна, дипломирани инжењер технологије</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2007, Прехранбено-биотехнолошке науке</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране:</p>
<p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука:</p>
III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:
<p>„Функционалне и антиоксидативне особине тропца цвекле (<i>Beta vulgaris</i>)“</p>

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са назнаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикона и сл.

Докторска дисертација дипл. инг. Јелене Вулић је веома прегледно и јасно изложена у шест поглавља:

Увод (стр. 1-2),

Општи део (стр. 3-54),

Експериментални део (стр. 55 -74),

Резултати и дискусија (стр. 75-119),

Закључак (стр. 120-123),

Литература (стр. 124-154).

Дисертација је написана на страна А4 формата, са 63 оригиналне слике и 27 табела, цитирано је 407 литературна навода, а на почетку су дате кључне документацијске информације са кратким изводом на српском и енглеском језику.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У УВОДУ кандидаткиња указује на чињеницу да током технолошких поступака прераде воћа и поврћа заостају велике количине споредних производа који представљају економски дефицит и еколошки проблем, али и значајан губитак биомасе и фитонутријената. Даље се истиче да се данас у свету ови споредни производи користе као храна за животиње, за производњу прехранбених влакана и биогорива, али такође ови производи представљају значајан извор биоактивних антиоксидативних једињења и бојених материја, који би могли наћи примену у функцији адитива у прехранбеној индустрији. Биолошки активни секундарни метаболити, присутни у воћу и поврћу, а који се налазе и у споредним производима прераде воћа и поврћа, имају позитивну улогу у превенцији различитих обољења, патолошких стања, процеса старења и других нежељених промена у хуманом организму изазваних прекомерном продукцијом слободних радикала. Иако хумани организам има комплексни ензимски систем заштите од деловања слободних радикала, у условима појачане продукције слободних радикала, неопходно је у организам уносити и додатне антиоксидативне компоненте кроз храну, дефинисану као функционална храна, у циљу превенције њиховог негативног деловања.

Кандидаткиња наводи да прехранбени производи у свом саставу садрже различите адитиве, тј. супстанце које се додају храни у циљу постизања одређених ефеката, односно користе се као антиоксиданти, конзерванси, заслађивачи, боје, ароме и др. Највећи део данас примењиваних адитива (84%) још увек је синтетичког порекла. Многе научно-истраживачке студије указују на већу ефикасност и здравствену безбедност природних адитива изолованих из екстраката различитих биљака, њихових етарских уља, као и биљних отпадних производа. С обзиром да се и потрошачи све мање опредељују за храну која садржи синтетичке адитиве, функционални и нутритивни састојци из природних извора су све траженији. Природни адитиви имају различиту хемијску структуру која условљава њихово специфично понашање. У најзначајније природне адитиве убрајају се биљни секундарни метаболити као што су фенолна једињења, терпеноиди, беталаини, токофероли, глукозинолати, као и једињења која садрже сумпор.

Цвекла (*Beta vulgaris*) је поврће из фамилије *Amaranthaceae* карактеристичне црвене боје које се користи у кулинарству и исхрани. Она је извор природних пигмената беталаина црвено-љубичастих бетацијана и жуто-наранџастих бетаксантина, који представљају сигурну природну алтернативу за неке синтетичке боје, које се тренутно користе. Кандидаткиња истиче да поред природних бојених, цвекла садржи и значајану количину антиоксидативних једињења, пре свега фенолних једињења и беталаина, која имају способност уклањања реактивних кисеоничних врста – узрочника патолошких стања хуманог организма.

Троп цвекле који заостаје након прераде цвекле у сок је око 15-30% свеже цвекле (Отто и Sulc, 2001). Троп цвекле, иако богат беталаинима и фенолним једињењима, користи се као сточна храна

или као ђубриво. Садржај укупних фенолних једињења је највећи у љусци (50%), горњем делу плода (37%) и месо (13%). Љуска садржи и највећи део беталаина (54%), горњи део (32%) и месо (14%) (Кујала и сар, 2000).

Предмет истраживања ове докторске дисертације је троп пет одабраних сорти (Детроит, Цардеал-Ф1, Египатска, Бикор и Кестрел) цвекле (*Beta vulgaris*). У Уводу се даље истиче да је рад на извођењу ове докторске дисертације обухватио: добијање тропа пет одабраних сорти цвекле; добијање екстраката тропа одабраних сорти цвекле екстракцијом 50%-ним етанолом уз додатак 0,5% сирћетне киселине; пречишћавање добијених екстраката применом екстракције на чврстој фази (SPE); одређивање садржаја воде у екстрактима тропа одабраних сорти цвекле; спектрофотометријско одређивање садржаја укупних фенолних једињења применом Folin-Ciocalteu реагенса; одређивање укупних флавоноида применом методе по Zhishenu и укупних беталаина по von Elbeu у екстрактима тропа одабраних сорти цвекле; квалитативна и квантитативна HPLC (високопритисна течна хроматографија) анализа биљних фенолних једињења и беталаина екстраката тропа одабраних сорти цвекле; дефинисање антирадикалске активности испитивањем утицаја различитих концентрација свих добијених екстраката тропа одабраних сорти цвекле на реактивне хидроксил и супероксид анјон радикале, као и на стабилне 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил радикале (DPPH^{*}). Слободни радикали, настали у свим испитиваним системима, детектовани су применом најсавременије аналитичке технике за директну детекцију и карактеризацију слободних радикала - електрон спин резонантне (ESR) спектрометрије; корелациона анализа између садржаја фитохемикалија у екстрактима тропа одабраних сорти цвекле и њихове антирадикалске активности; спектрофотометријско одређивање антиоксидативне активности на DPPH радикале и редукционе способност по Ouaiu у екстрактима тропа одабраних сорти цвекле; одређивање површинске боје екстраката тропа одабраних сорти цвекле; испитивање *in vitro* антипролиферативне активности екстраката тропа одабраних сорти цвекле, њиховим деловањем на раст три хистолошки различите хумане ћелијске линије: MCF7 (хумани аденокарцином дојке), HeLa (хумани епителни карцином цервикса) и MRC-5 (хумани фетални фибробласти плућа), и испитивање антимикробне активност екстраката тропа одабраних сорти цвекле.

Поглавље ОПШТИ ДЕО састоји се из седам делова. Кандидаткиња веома студиозно анализира улогу функционалне хране, нарочито са аспекта очувања антиоксидативног статуса организма и превенције многих болести проузрокованих оксидативним стресом. У другом делу овог поглавља се веома детаљно обрађују улогу и хемијске реакције реактивних кисеоникових врста (РОС), задржавајући се на слободнорадикалским врстама. Објашњава механизам настанка слободних радикала, као и последице одвијања слободнорадикалских реакција у биолошким системима и храни. У трећем делу овог поглавља се анализирају антиоксиданти у храни. Прегледом литературе као и претходним испитивањима на предмету Органска хемија на Технолошком факултету у Новом Саду, утврђено је да биљке садрже, поред великог броја фитонутријената, и фенолна једињења. Велики број фитохемикалија има антиоксидативно деловање, али су фенолна једињења привукла највећу пажњу истраживача. Стога, у четвртном делу овог поглавља кандидаткиња посебно сериозно обрађује фенолна једињења, као веома важну групу биолошки активних нутријената са антиоксидативном активношћу. У петом поглављу анализирани су беталаини, азотни, у води растворни биљни пигменти. Кандидаткиња је у овој докторској дисертацији прегледно описала све представнике беталаина, њихову распрострањеност, биосинтезу, улогу и биорасположивост у хуманом организму, као и њихову примену у функцији биљних пигмената. Такође, дефинисала је стабилности беталаин и факторе који утичу на њихову хемијску стабилност. У шестом делу анализирана је цвекла, двогодишња, дикотиледона биљка, која садржи значајну количину фенолних киселина: ферулну, протокатехинску, ванилинску, *p*-кумаринску, *p*-хидроксибензојеву, кафену киселину, катехин хидрат и епикатехин. Кандидаткиња у последњем делу поглавља ОПШТИ ДЕО пише о споредним производима прераде поврћа као извору фитонутријената, али и о високом садржају значајних компонената у споредним производима прехранбене индустрије.

На основу проучене и систематизоване литературе, диплинг. Јелена Вулић је била у могућности да правилно анализира и објасни добијене резултате и да их упореди са резултатима других аутора који су радили на истој или сличној проблематици.

У поглављу ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО кандидаткиња, дипл. инг. Јелена Вулић наводи да је експериментални рад ове докторске дисертације урађен у лабораторијама Одељења за Органску хемију Технолошког факултета, Универзитета у Новом Саду, Одељења за Микробиологију

Технолошког факултета, Универзитета у Новом Саду, Института за прехранбене технологије у Новом Саду и Института за онкологију у Сремској Каменици. Кандидаткиња детаљно описује поступке екстракције и пречишћавања екстраката применом екстракције на чврстој фази (Solid Phase Extraction – SPE). Даље, описује спектрофотометријске методе за одређивање укупних фенолних једињења (метода по Folin-Ciocalteu), укупних флавоноида (метода по Zhishehu) и беталаина (метода по von Elbeu), као и методе високопритисне течне хроматографије (High Pressure Liquid Chromatography – HPLC) за квалитативну и квантитативну анализу фенолних једињења и беталаина у добијеним екстрактима тропа одабраних сорти цвекле. Антирадикалска активност свих добијених екстраката утврђена је применом електрон спин резонантне (ESR) спектрометрије, испитивањем њиховог деловања на реактивне супероксид анјон и хидроксил радикале, и на стабилне 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил радикале (DPPH[•]). Кандидаткиња је одредила антирадикалску активност екстраката спектрофотометријском анализом на DPPH радикале, као и укупну редукциону способност у свим екстрактима (метода по Oyaizu). Испитана је површинска боја екстраката тропа одабраних сорти цвекле. Антипролиферативна активност екстраката тропа одабраних сорти цвекле на раст три хистолошки различите хумане ћелијске линије, MCF-7 (хумани аденокарцином дојке), HeLa (хумани епителни карцином цервикса), MRC-5 (хумани фетални фибробласти плућа) и испитана је применом фотометријске методе (SRB тест). Одређена је антимокробна активност екстраката тропа одабраних сорти цвекле диск-дифузионом методом и методом бунарчића.

Добијени резултати су на адекватан начин статистички обрађени. Утврђена је аритметичка средина, стандардна грешка, линеарна међузависност између две променљиве - резултата антирадикалских тестова и резултата HPLC анализа садржаја фенолних једињења (кофицијент корелације – "r"), значајност разлике између аритметичких средина применом једнодимензионе класификације анализе варијансе и вишеструког теста интервала (Tuskey-ов тест између више аритметичких средина).

Резултати претходно описаних испитивања, као и њихова анализа, приказани су у поглављу РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА на слика и у табеле. Ово поглавље је подељено на петнаест целина. Спектрофотометријским методама утврђен је садржај укупних фенолних једињења, флавоноида и беталаина у екстрактима тропа одабраних сорти цвекле, док је HPLC методом утврђен квантитативан и квалитативан састав екстраката тропа одабраних сорти. Након тога, кандидаткиња је приказала резултате ESR анализа антирадикалских тестова, односно утицаја екстраката одабраних сорти цвекле на стварање и трансформацију супероксид анјон, хидроксил и DPPH радикала. Детаљна анализа и дискусија ових резултата је извршена поређењем хемијског састава екстраката добијених HPLC анализом, и механизма антиоксидативног деловања биоактивних компонената екстраката. Дискусија добијених резултата обављена је у складу са најновијим литературним наводима из области хемије слободних радикала и антиоксиданата.

ESR спектрална анализа слободних радикала антиоксиданата присутних током реакције екстраката поткрепљене су механизмима који су у складу са саставом анализираних екстраката и наведеном литературом. Веза између резултата HPLC анализа и ESR анализа антирадикалских тестова утврђена је и анализом линеарне међузависности између ове две променљиве, тзв. корелационом анализом.

Спектрофотометријском анализом одређена је антирадикалска активност екстраката тропа одабраних сорти цвекле на DPPH радикале и одређене су EC₅₀ вредности екстраката тропа одабраних сорти цвекле. Такође, кандидаткиња је утврдила и укупну редукциону способност екстраката тропа одабраних сорти цвекле. Испитана је површинска боја екстраката. Докторанткиња је на основу добијени резултата, анализирала антимикуробну активност екстраката тропа одабраних сорти цвекле.

У последњем делу поглавља РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА анализирани су резултати испитивања антипролиферативне активности екстраката, *in vitro*, на раст ћелијских линија хуманог аденокарцинома дојке, хуманог епителног карцинома цервикса и хуманог карцинома плућа, и дискутовани узимајући у обзир резултате антирадикалске активности испитаних екстраката.

У обављеној анализи кандидаткиња је испољила велико теоретско знање, вешто је користила бројне податке из цитиране литературе компарирајући их са резултатима сопствених истраживања, а уочене појаве успешно је објаснила у духу савремених истраживања из области антиоксиданата и слободних радикала, да би на крају изнела валидне закључке.

ЗАКЉУЧЦИ су веома добро изведени из добијених резултата и њихове дискусије, те се могу

сматрати поузданим.

У последњем поглављу ЛИТЕРАТУРА аутор наводи референци које су коришћене у писању ове дисертације и које су цитиране на умешан и правилан начин. Избор референци је актуелан (више од половине цитата су новијег датума) и примерен тематици која је проучавана.

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

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у часопису са ISI листе односно са листе министарства надлежног за науку када су у питању друштвено-хуманистичке науке или радове који могу заменити овај услов до 01.јануара 2012. године. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

M23 – Рад у међународном часопису:

Čanadanović-Brunet J. M., Savatović S. S., Četković G. S., Vulić J. J., Djilas S. M., Markov S. L., Cvetković D. D. Antioxidant and antimicrobial activity of beet root pomace extracts, Czech Journal of Food Sciences, 2011, 29:6, 575-585.

M22 – Рад у истакнутом међународном часопису:

Jelena Vulić, Jasna Čanadanović-Brunet, Gordana Četković, Vesna Tumbas, Sonja Djilas, Dragana Četojević-Simin, Vladimir Čanadanović. Antioxidant and Cell Growth Activities of Beet Root Pomace Extracts, Journal of Functional Foods, DOI:10.1016/j.jff.2012.04.008.- **прихваћен за штампу**

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

У раду су испитани хемијски састав, антирадикалска, антипролиферативна и антимикуробна активност екстракта тропа одабраних сорти (Детроит, Цардеал-Ф1, Египатска, Бикор и Кестрел) цвекле (*Beta vulgaris*).

Испитивања хемијског састава екстракта тропа одабраних сорти цвекле обухватила су спектрофотометријско одређивање садржаја укупних фенолних једињења, флавоноида и беталаина, као и HPLC анализу фенолних једињења и беталаина.

Резултати спектрофотометријских испитивања указују да је највећи садржај укупних фенолних једињења (942,33 мг/г) и флавоноида (461,03мг/г) у екстракту тропа цвекле сорте Бикор, бетацијана у екстракта тропа цвекле сорте Детроит (220,56 мг/г), а бетаксантина у екстракту тропа цвекле сорте Бикор (165,93 мг/г).

Резултати HPLC анализе фенолних једињења показали су да је најзаступљеније једињење фенолне структуре катехин, и то у свим испитиваним екстрактима тропа различитих сорти цвекле. Највећи садржај је одређен код екстракта тропа цвекле сорте Бикор и износио је 68,71 мг/г сувог екстракта, што је 87,33% укупних фенолних једињења у том екстракту.

Резултати HPLC анализе бетацијана указују да троп цвекле сорте Детроит има највећи садржај бетанина (81,45 мг/г сувог екстракта) и изобетанина (50,36 мг/г сувог екстракта), што је у сагласности са резултатима одређивања беталаина спектрофотометријском методом. Резултати HPLC анализе бетаксантина указују да екстракти тропа цвекле сорти Детроит и Египатска имају садржај вулгаксантина 1 0,71, екстракт тропа цвекле сорте Бикор 0,70, а екстракт тропа цвекле сорте Кестрел 0,38 мг/г сувог екстракта. У екстракту тропа цвекле сорте Цардеал-Ф1 нису идентификовани бетаксантини.

Применом ESR спектроскопије одређена је антирадикалска активност екстракта тропа одабраних сорти цвекле на реактивне супероксид анјон и хидроксил радикале, као и на стабилне DPPH радикале.

Екстракт тропа цвекле сорте Бикор показао је најизразитије деловање на хидроксил радикале ($EC_{50}^{•OH} = 0,042$ мг/мл), док је најмању антирадикалску активност показао екстракт тропа цвекле сорте Цардеал-Ф1 у целом опсегу испитиваних концентрација. Екстракт тропа цвекле сорте Бикор постигао је антирадикалску активност од 100% при концентрацији од 0,15 мг/мл, екстракти тропа цвекли сорти Детроит и Кестрел при концентрацији од 0,25 мг/мл, екстракт тропа цвекле сорте Египатска при 0,5 мг/мл, а екстракт тропа цвекле Цардеал-Ф1 при концентрацији од 1,0 мг/мл.

Екстракт тропа цвекле сорте Бикор показао је најизразитије деловање на супероксид анјон радикале

($EC_{50}^{O_2^{\cdot-}}=0,110$ мг/мл), док је најмању антирадикалску активност показао екстракт тропа цвекле сорте Цардеал-Ф1 у целом опсегу испитиваних концентрација. Екстракти тропа цвекле сорти Бикор и Кестрел потпуно су уклонили супероксид ањон радикале из реакционе смеше ($AA_{O_2^{\cdot-}}=100\%$) при истој примењеној концентрацији од 0,25 мг/мл, а екстракти тропа цвекле сорти Египатска и Цардеал-Ф1 при концентрацији од 1,5 мг/мл, а екстракт тропа сорте Детроит при концентрацији од 2,0 мг/мл.

Екстракт тропа цвекле сорте Детроит показао је најизразитије деловање на DPPH радикале ($EC_{50}^{DPPH^{\cdot}}=0,075$ мг/мл), док је најмању антирадикалску активност показао екстракт тропа цвекле сорте Кестрел у целом опсегу испитиваних концентрација. Екстракти тропа цвекле сорти Цардеал-Ф1, Египатска, Бикор и Кестрел потпуно су уклонили DPPH радикале из реакционе смеше ($AA_{DPPH^{\cdot}}=100\%$) при истој примењеној концентрацији од 1,0 мг/мл, а екстракт тропа цвекле сорте Детроит при концентрацији од 0,3 мг/мл.

На основу EC_{50} вредности евидентно је да су екстракти тропа свих испитиваних сорти цвекле показали већу антирадикалску активност на хидроксил и супероксид ањон радикале од синтетичког антиоксиданта ВНА. Екстракти тропа цвекле сорти Детроит и Цардеал-Ф1 су имали већу антирадикалску активност на DPPH радикале од синтетичког антиоксиданта ВНА.

Корелационом анализом одређена је зависност између антиоксидативних активности (антирадикалска активност на OH^{\cdot} , $O_2^{\cdot-}$ и DPPH $^{\cdot}$, изражених као EC_{50} вредности) и садржаја фитохемикалија (укупних фенолних једињења, укупних флавоноида, укупних беталаина, фенолних једињења одређених HPLC методом) екстраката тропа испитиваних сорти цвекле.

Врло добра корелација ($r > 0,8$) утврђена је између садржаја укупних бетацијана и протокатехинске киселине са антирадикалским активностима на DPPH радикале, као и хлорогенске киселине и антирадикалске активности на хидроксил радикале. Добра корелација ($r > 0,5$) забележена је између укупног садржаја фенолних једињења и $AA_{OH^{\cdot}}$, садржаја укупних флавоноида и рутина на $AA_{O_2^{\cdot-}}$, као и тоталних беталаина на $AA_{DPPH^{\cdot}}$.

Одређена је антиоксидативна активност на стабилне DPPH радикале и спектрофотометријском методом. На основу EC_{50} вредности може се закључити да најјаче деловање показује екстракт тропа цвекле сорте Детроит ($EC_{50}^{DPPH^{\cdot}}=2,064$ μ г/мл), а најслабије екстракт тропа сорте Кестрел. Сви екстракти тропа цвекле показали су бољу антирадикалску активност од синтетичког антиоксиданта ВНА. Редослед активности испитиваних екстраката тропа подударују се са редоследом антиоксидативне активности одређене ЕСР методом.

Испитана је редуциона способност екстраката тропа одабраних сорти цвекле. Најјачу редуциону способност показао је екстракт тропа цвекле сорте Детроит ($RS_{0,5}=0,123$ мг/мл), а најслабију екстракт тропа цвекле сорте Египатска. Сви екстракти имали су незнатно слабију редуциону способност од ВНА.

Резултати површинске боје екстраката указују да је светлоћа површине екстракта (L^*) најмања код екстраката тропа цвекле сорте Бикор. Учешће црвеног тона (a^*) у боји површине знатно је већа код екстраката сорте Бикор у односу на све остале екстракте. Учешће жутог тона (b^*) у боји површине незнатно варира, али је највеће код сорте Египатска. Разлике у b^* вредностима најмање су изражене у поређењу са друга два показатеља боје (L^* и a^*). Боје екстраката су биле веома добро изражене, на шта указују високе вредности параметра за разлику боје ΔE^*ab (CIELab).

Приликом испитивања антимикробне активности екстраката тропа цвекле коришћене су две методе, диск дифузиона метода и метода бунарчића. Антимикробна активност одређена диск дифузионом методом била је мања од антимикробне активности одређене другом испитиваном методом.

Око контролних дискова који су импрегнирани антибиотицима (cefotaxim 30 μ г/clavulanic acid 10 μ г дискови) појавиле су се „чисте“ (без икаквог видљивог раста) зоне у случају свих тестираних бактерија. Највећа активност забележена је према бактеријама *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* и *Bacillus cereus* (пречници већи од 30 мм), а најмањи пречници у случају Грам-позитивних бактерија *Listeria monocytogenes* и *Enterococcus faecalis* (пречници мањи од 15 мм).

Употребом диск дифузионе методе није уочена антибактеријска активност екстраката цвекле против тестираних Грам-позитивних бактерија. Такође, све тестиране врсте рода *Bacillus* показале су резистентност према екстракту цвекле коришћењем и диск дифузионе и методе бунарчића. Извесна антибактеријска активност одређена методом бунарчића забележена је на бактерије *Staphylococcus*. Чиста зона око бунарчића забележена је употребом 100 μ л екстраката на бактерије *Staphylococcus sciuri* и *Staphylococcus epidermitis*. Највећу активност екстракт тропа цвекле је испољио према

Staphylococcus equorum приликом апликавања 50 и 100 μ л екстракта.

Испитан је и утицај екстракта тропе цвекле на представнике еукариотских микроорганизама. Екстракт тропе цвекле није показао активност на микроорганизме са еукариотским типом ћелија (квасци и плесни). *Candida albicans* је најрезистентнија тестирана еукариотска врста, док друге еукариотске врсте су показале хало зону од 27 мм или више.

Антипролиферативна активност екстракта тропе одабраних сорти цвекле испитана је *in vitro*, њиховим деловањем на раст три хистолошки различите хумане ћелијске линије: MCF7 (хумани аденокарцином дојке), HeLa (хумани епителни карцином цервикса) и MRC-5 (хумани карцином плућа) у опсегу концентрација које су износиле 1,95 - 1000 μ г/мл. Испитивани екстракти тропе одабраних сорти цвекле утицали су на раст туморских ћелија у зависности од примењене концентрације и врсте ћелијске линије.

На MCF7 ћелијској линији антипролиферативни ефекти су уочени на највишим испитиваним концентрацијама (≥ 250 μ г/мл). Највећу антипролиферативну активност показали су екстракти тропе цвекле сорти Цардеал-Ф1 ($EC_{50}=383$ μ г/мл) и Бикор ($EC_{50}=460$ μ г/мл), док су EC_{50} вредности осталих екстракта тропе биле у распону од 573,28 - 587,88 μ г/мл. Поред уочених инхибиторних ефеката на раст, на вишим концентрацијама, у опсегу концентрација од 7,81 - 125 μ г/мл екстракти тропе цвекли сорти Детроит, Кестрел, Египатска и Цардеал-Ф1 су изазвали статистички значајну ($p < 0,01$) стимулацију раста MCF7 целијске линије, док екстракт тропе цвекле сорте Бикор није показао ту активност.

И на HeLa ћелијској линији антипролиферативни ефекти су уочени на највишим испитиваним концентрацијама (≥ 250 μ г/мл). Највећу антипролиферативну активност показао је екстракт тропе цвекле сорте Цардеал-Ф1 ($EC_{50}=427,78$ μ г/мл), док су EC_{50} вредности осталих екстракта биле у распону од 646,79 - 755,36 μ г/мл.

На MRC-5 ћелијској линији антипролиферативни ефекти су уочени, такође, при највишим испитиваним концентрацијама (≥ 250 μ г/мл). Највећу антипролиферативну активност показали су екстракти тропе цвекле сорти Цардеал-Ф1 ($EC_{50}=362,48$ μ г/мл) и Египатска ($EC_{50}=370,29$ μ г/мл), док су EC_{50} вредности осталих екстракта биле су у распону од 393,83 - 503,53 μ г/мл.

Поред уочених инхибиторних ефеката на раст, екстракти тропе цвекле сорти Детроит, Кестрел и Египатска су изазвали статистички значајну ($p < 0,01$) стимулацију раста HeLa ћелијске линије у опсегу концентрација од 3,91 - 250 μ г/мл. Такође, екстракти тропе цвекле сорти Бикор и Цардеал-Ф1, у опсегу концентрација од 1,95 - 7,81 μ г/мл су изазвали статистички значајну ($p < 0,01$) стимулацију раста MRC-5 ћелијске линије.

Врло добра корелација ($p > 0,8$) утврђена је између антипролиферативне активности на HeLa ћелијске линије са антирадикалском активности на хидроксил радикале. Добра корелација ($p > 0,5$) забележена је између антипролиферативне активности на MRC-5 и AA_{DPRH} , као и AA_{OH} , али и антипролиферативне активности на MCF и AA_{OH} .

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Добијени резултати су проистекли из веома обимних, оригинално постављених лабораторијских испитивања састава, функционалних особина, антирадикалске, антимикуробне и антипролиферативне активности екстракта тропа одабраних сорти цвекле. Резултати ових истраживања су систематично, јасно и прегледно приказани и дискутовани. Интерпретација резултата заснива се на добром познавању хемије слободних радикала и природних антиоксиданата, као и на најновијим доступним научним сазнањима, те се начин приказа и тумачења резултата истраживања оцењује позитивно.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:

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

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Дисертација дипл. инг. Јелене Вулић је у складу са образложењем наведеним у пријави теме ове докторске дисертације. Дисертација дипл. инг. Јелене Вулић, представља оригинални допринос науци јер је веома комплексним истраживањем доказано да природни антиоксиданти (фенолна једињења, флавоноиди и беталаини), изоловани из тропа одабраних сорти цвекле, испољавају веома снажно антирадикалско дејство на супероксид анјон, хидроксил и DPPH радикале. Екстракти тропа пет одабраних сорти цвекле су пречишћени екстракцијом на чврстој фази у циљу што прецизнијег изоловања и валоризације појединачних антирадикалских, антимикуробних и антипролиферативних активности. Антирадикалски тестови су спроведени применом најсавременије методе за детекцију слободних радикала - ESR спектроскопије. Поред тога, одређена је и антирадикалска активност спектрофотометријским тестовима на DPPH радикале и укупна редукциона способност екстракта тропа цвекле. На основу ових резултата претпостављени су механизми антиоксидативног деловања присутних класа природних антиоксиданата. Одређена је антимикуробна активност екстракта тропа цвекле. Утврђено је да су за антипролиферативно деловање тропа цвекле, испитано у овој докторској дисертацији на ћелијске линије MCF7 (хумани аденокарцином дојке), HeLa (хумани епителни карцином цервикса) и MRC-5 (хумани фетални фибробласти плућа), одговорна фенолна једињења и беталаини.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања
Недостаци дисертације нису уочени.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

- да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана
- да се докторска дисертација враћа кандидату на дораду (да се допуни односно измени) или
- да се докторска дисертација одбија

Полазећи од позитивне оцене докторске дисертације ЈЕЛЕНА ВУЛИЋ, дипл. инг, Комисија са задовољством предлаже да се прихвати ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ, а кандидаткињи одобри одбрана овог рада.

НАВЕСТИ ИМЕ И ЗВАЊЕ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ, ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ _____

др Јасна Чанадановић-Брунет, редовни

др Соња Ђилас, редовни

др Анамарија Мандић, научни сарадник, Институт за пр

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.