

**НАСТАВНО – НАУЧНОМ ВЕЋУ
ФАКУЛТЕТА ЗА ФИЗИЧКУ ХЕМИЈУ
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

На редовној седници Наставно-научног већа Факултета за физичку хемију Универзитета у Београду, одржаној 16.10.2021. године именовани смо за чланове Комисије за оцену докторске дисертације кандидата **Милице Нешовић**, мастер физикохемичара, под насловом „**Полифенолни профил, антиоксидациона активност и основни физикохемијски параметри хељде и меда од хељде**“. Веће научних области природних наука Универзитета у Београду је на седници одржаној 12.03.2020. године донело одлуку о давању сагласности за израду докторске дисертације под наведеним насловом на основу захтева бр. 256/2. Након прегледања и анализе докторске дисертације, подносимо Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја дисертације

Докторска дисертација кандидата Милице Нешовић написана је на 102 стране куцаног текста према Упутству за обликовање докторске дисертације Универзитета у Београду. Докторска дисертација садржи следеће делове: насловне странице на српском и енглеском језику (2 стране), страницу са информацијама о менторима и члановима комисије (1 страна), Захвалницу (1 страна), странице са Сажетком и подацима о докторској дисертацији (кључне речи, научна област, ужа научна област, УДК број) на српском и енглеском језику (2 стране), Садржај (2 стране) и текст докторске дисертације који је подељен на поглавља: Теоријски увод (17 страна), Циљ рада (1 страна), Експериментални рад (9 страна), Резултати и дискусија (34 страна), Закључак (2 стране) и Литература (158 навода, 12 страна), Додатак (11 страна), Биографија (1 страна), Библиографија са објављеним научним радовима и саопштењима проистеклим из докторске дисертације (1 страна) и додатним објављеним научним радовима и саопштењима (2 стране), а затим и Прилог у коме су изјаве прописане од стране Универзитета (4 стране). Дисертација садржи укупно 15 табела и 16 слика, од којих 11 табела и 11 слика приказују резултате истраживања кандидата.

Теоријски увод је подељен на шест поглавља: функционална храна, хељда, мед, полифенолна једињења, антиоксидациона активност и угљени хидрати. Прво поглавље се односи на значај функционалне хране за здравље људи. Наглашена је употреба, као и анализа намирница које се могу дефинисати као функционална храна, међу којима се сврстава и хељда и мед. Друго поглавље описује хељду биљку, њен значај и примену, као и искоришћеност надземних делова хељде са нагласком на хемијски састав морфолошких

делова хељде: листа, стабљике, цвета, зрна, као и полена и нектара. У трећем поглављу наведене су опште карактеристике меда са нагласком на научна истраживања која се односе на мед хељде који је веома ретко заступљен. Четврто поглавље обухвата област секундарних метаболита биљака, тј. групу полифенолних једињења као важних фитохемикалија. Описан је значај садржаја полфенолних једињења у меду, са аспекта дефинисања ботаничког порекла меда. Приказане су методе анализе полифенолног профила, са посебним освртом на полфенолни профил хељде и меда хељде. У петом поглављу су првенствено описани слободни радикали и антиоксиданси. Након описа њиховог значаја, приказана су научна истраживања везана за антиоксидациону активност хељде и меда хељде. Последње поглавље Теоријског увода се односи на примарне метаболите биљака, тј. угљене хидрате, њихову присутност у хељди и меду, као и методе одређивања ових битних нутритивних једињења.

У **Циљу рада** првенствено је приказана основна идеја докторске дисертације. Кроз описивање проблематике процене ботаничког порекла меда са ниским садржајем поленових зрна, међу којима је и мед хељде, увиђа се значајност испитивања полифенолног профила овог типа меда. Идеја докторске дисертације се између осталог ослања на значајан број научних студија које се баве испитивањем полифенолних једињења као потенцијалних маркера ботаничког и/или географског порекла меда. Имајући ово у виду, потенцијално решење за прецизнију процену ботаничког порекла меда хељде се може применити и за друге врсте меда који садрже низак садржај поленових честица. У Циљу рада је наведен и значај карактеризације различитих делова хељде почевши од листа, преко других морфолошких делова, до њених производа, полена и нектара и меда. Праћењем транспорта полифенолних једињења кроз биљку до производње меда, даје се битан допринос за процену ботаничког порекла меда хељде. Такође, детаљном карактеризацијом хељдиног листа, стабљике, цвета, зрна, као и полена, нектара и меда, потврђује се припадност хељде и њених производа функционалној храни.

Експериментални рад предствља поглавље у којем су наведене хемикалије, реагенси и узорци који су коришћени, али и детаљно описане експерименталне процедуре припреме и методе анализе полифенолног профила, антиоксидационе активности и основних физичкохемијских параметара. При употреби различитих метода карактеризације узорака, описани су инструменти који су коришћени, као и њихов принцип рада са примењеним условима снимања. Описане су савремене експерименталне методе течне хроматографије високих перформанси (енг. *Ultra-High Performace Liquid Chromatography, UHPLC*) уз коришћење детектора диодних низова (енг. *diode array detector, DAD*) и масеног спектрометра (енг. *Mass Spectrometry, MS*), тј. *UHPLC-DAD MS/MS*, као и линеарног трап квадруполоа (енг. *Linear Trap Quadrupole, LTQ*) масеног спектрометра и *OrbiTrap*-а тј. *UHPLC-LTQ OrbiTrap*. Такође, описана је примењена метода јонске хроматографије са пулсно амперометријским детектором (енг. *High-Performace Anion Exchange Chromatography-Pulse Amperometric Detector, HPAEC-PAD*),

као и метода ултраљубичасте-видљиве (енг. *Ultraviolet/Visible, UV/Vis*) спектроскопије и технике рефрактометрије и кондуктометрије.

У поглављу **Резултати и дискусија** детаљно су приказани добијени резултати полифенолног профила, антиоксидационе активности и основних физикохемијских параметара хељде и меда хељде. У складу с тим, ова целина је подељена на три поглавља. Први део се односи на хроматографско одређивање полифенолног профила узорака. Квалитативна и квантитативна анализа полифенолних једињења је допуњена са табелама и сликама из којих су изведени одређени закључци. Друго поглавље садржи резултате спектрофотометријског одређивања антиоксидационе активности. Треће поглавље се односи на одређивање основних физикохемијских параметара, међу којима се истичу резултати шећера, а затим и параметри садржаја воде и проводљивости.

У делу **Закључци** су сумирани добијени резултати докторске дисертације који одговарају постављеном циљу рада. Приказани су резултати који издвајају хељду и мед хељде као функционалну храну. Нагалшени су добијени резултати који су од значаја за процену ботаничког порекла меда хељде као ретко заступљеног монофлоралног типа меда.

Део **Литература** садржи научне радове који су униформно цитирани и то по редоследу којим се појављују у тексту докторске дисертације.

У **Прилогу** су приложене табеле и слике које допуњују целокупну докторску дисертацију.

Б. Опис резултата дисертације

На основу приказаних резултата наглашава се значај уочене сличности полифенолног профила меда хељде и различитих делова биљке хељде. Детаљна анализа полифенолног профила меда хељде, као и хељдиног нектара, полена, зрна, цвета, стабљике и листа показује корелацију полифенолних једињења. Уочено је да се од листа, места започињања процеса фотосинтезе, полифеноли транспортују кроз хељду и доспевају до меда мењајући своју структуру. Истиче се уочена корелација полифенолних једињења меда хељде са нектаром хељде, затим са општеприхваћеним полифенолним профилем прополиса, а у мањој мери са добијеним профилем полена хељде. Управо овај приступ омогућава прецизнију процену ботаничког порекла меда хељде. Наглашено је да општеприхваћена поленска анализа није сасвим довољна метода приликом процене ботаничког порекла меда са ниским садржајем поленских честица, какав је и мед хељде. Према томе, ови резултати представљају значајан научни допринос за процену ботаничког порекла меда. Резултати антиоксидационе активности додатно потврђују значајност хељде биљке, тј. њених различитих делова, као и њених производа. Резултати физикохемијских параметара потврђују квалитет меда хељде, и показују да су мед хељде и биљка хељда заиста битни извор нутритивних састојака и са разлогом се могу сматрати функционалном храном.

В. Упоредна анализа резултата дисертације са резултатима из литературе

Упоредна анализа добијених резултата из докторске дисертације са литературом, кандидату је омогућила да истакне значајност функционлне хране [1], да покаже припадност хељде [2] и меда хељде овој групи намирница [3]. Хељда је вишенаменска биљка, чије је употреба разнолика, и позитивно утиче на здравље људи [2]. Постоји велики број студија које детаљно проучавају биљку хељду, њене различите делове или производе, међу којима је и мед хељде.

Сагласно са литературним подацима, кандидат је представио проблематику процене ботаничког порекла меда, која се првенствено односи на мед са ниским садржајем полена. Мелисопалинолошка анализа је општеприхваћена метода за процену ботаничког порекла меда, на основу које се монофлоралан мед сматра мед са преко 45 % поленових зрна одређене нектарске врсте [4]. Међутим, медоносне пчеле поред сакупљања полена да би себи обезбедиле неопходне протеине, случајним додиривањем прашника различитих цветова покупе и полен ненектарских врста. Сходно томе, може се појавити мед са недовољно репрезентативним поленовим зрнима који нису у корелацији са одговарајућим ботаничким пореклом меда. Према томе, процена ботаничког порекла меда применом мелисопалинолошке анализе има недостатке у случајевима меда са ниским садржајем поленових зрна, где се сврстава и мед хељде [3,5]. За ове случајеве меда веома је важно пронаћи додатне параметре који би допринели прецизнијој процени ботаничког порекла меда.

Полифеноли су секундарни метаболити иљака чију синтезу прати трансформација приликом транспорта кроз различите биљне органе. У литератури је забележено да се полифеноли користе као потенцијални маркери ботаничког порекла меда [6], па и меда хељде [3]. Детаљном анализом полифенолног профила хељде, почевши од листа, преко стабљике, цвета, зрна, полена, нектара до меда, показана је корелација полифенолних једињења. Добијени резултати су у сагласности са резултатима полифенолног профила [3], антиоксидационе активности [7] и основних физикохемијских параметара [8] који су објављени у литератури. Штавише, добијени резултати истичу да за мед хељде са различитим садржајем поленових зрна хељде (4,05 % и 40,83 %) није уочена значајна разлика, а при томе је приказана изузетна корелација оба узорка меда са нектаром хељде.

Навођењем резултата који су објављени у високоранганим часописима, кандидат је успео да покаже сличност својих резултата и да пружи нову методу процене ботаничког порекла меда хељде. Праћењем транспорта полифенолних једињења кроз биљку до меда, и корелацијом са објављеним резултатима полифенолног профила прополиса, полена и нектара, кандидат је успешно одговорио на задати циљ рада и спровео до краја почетну идеју докторске дисертације. Уз помоћ литературе и својих резултата, кандидат је донео закључке који представљају битан научни допринос за процену ботаничког порекла меда

хељде. Додатно, поређењем са литературом, увиђа се важност ових резултата и за случајеве других врста меда са ниским садржајем поленових зрна.

Литература наведена у упоредној анализи:

- [1] Iwatani, S., Yamamoto, N. (2019). Functional food products in Japan: A review. *Food Science and Human Wellness*, 8(2), 96-101.
- [2] Gimenez-Bastida, J. A., Zielinski, H. (2015). Buckwheat as a functional food and its effects on health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(36), 7896-7913.
- [3] Pasini, F., Gardini, S., Marcazzan, G.L., Caboni, M.F. (2013). Buckwheat honeys: screening of composition and properties. *Food Chemistry*, 141(3), 2802-2811.
- [4] Von Der Ohe, W., Oddo, L.P., Piana, M.L., Morlot, M., Martin, P. (2004). Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S18-S25.
- [5] Kuś, P.M., Congiu, F., Teper, D., Sroka, Z., Jerković, I., Tuberoso, C.I.G. (2014). Antioxidant activity, color characteristics, total phenol content and general HPLC fingerprints of six Polish unifloral honey types. *LWT-Food Science and Technology*, 55(1), 124-130.
- [6] Tomás-Barberán, F.A., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B.S., Ankam, E. (2001). HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(5), 485-496.
- [7] Kiprovski, B., Mikulic-Petkovsek, M., Slatnar, A., Veberic, R., Stampar, F., Malencic, D., Latkovic, D. (2015). Comparison of phenolic profiles and antioxidant properties of European *Fagopyrum esculentum* cultivars. *Food Chemistry*, 185, 41-47.
- [8] Popek, S., Halagarda, M., Kurska, K. (2017). A new model to identify botanical origin of Polish honeys based on the physicochemical parameters and chemometric analysis. *LWT-Food Science and Technology*, 77, 482-487.

Г. Научни радови и саопштења публиковани из резултата дисертације

На основу добијених резултата докторске дисертације кандидата Милице Нешовић објављено је два рада (катеорије М22), два саопштења са скупова међународног значаја штампаних у целини (катеорије М33) и два саопштења са скупова међународног значаја штампаних у изводу (катеорија М34).

Радови у истакнутом међународном часопису (М22):

1. Milica Nešović, Uroš Gašić, Tomislav Tosti, Nikola Horvacki, Nebojša Nedić, Milica Sredojević, Stevan Blagojević, Ljubiša Ignjatović, Živoslav Tešić. (2021). Distribution of polyphenolic and sugar compounds in different buckwheat plant parts. *RSC Advances*, 11, 25816-25829, <https://doi.org/10.1039/D1RA04250E>

2. Milica Nešović, Uroš Gašić, Tomislav Tosti, Nikola Horvacki, Branko Šikoparija, Nebojša Nedić, Stevan Blagojević, Ljubiša Ignjatović and Živoslav Tešić. (2020). Polyphenolic profile of buckwheat honey, nectar and pollen. *The Royal Society Open Science*, 7(12), 201576. <https://doi.org/10.1098/rsos.201576>

Саопштења са скупова међународног значаја штампана у целини (M33):

1. Živoslav Tešić, Milica Nešović, Fatjon Hoxha, Stevan Blagojević. (2021). Polyphenols as a possible markers of botanocal origin of buckwheat honey. *Proceeding 3rd International Conference on Agriculture and Life Sciences ICOALS-3*, Agricultural University of Tirana, Albania, November 1st-3rd, 2021.
2. Milica M. Nešović, Adrian B. Douglas, Tomislav B. Tosti, Jelena Trifković, Evaraldo Attard, Živoslav Lj. Tešić, Uroš M. Gašić. (2021). Composition of buckwheat extracts determined by UHPLC-LTQ OrbiTrap MS. *Proceeding Physical Chemistry 2021 - The 15th International Conference on Fundamental and Applied Aspects of Physical Chemistry*, Belgrade, Serbia, September 20th-28th, 2021.

Саопштења са скупова међународног значаја штампана у изводу (M34):

1. Milica M. Nešović, Uroš M. Gašić, Tomislav B. Tosti, Stevan N. Blagojević, Nebojša M. Nedić, Ljubiša M. Ignjatović, Živoslav Lj. Tešić. (2021). UHPLC OrbiTrap MS analysis of buckwheat honey, nectar and pollen polyphenols. *Proceeding 2nd UNIFood Conference*, Belgrade, Serbia, September 24th-25th, 2021.
2. Milica Nešović, Radoslav Daljević, Tomislav Tosti, Uroš Gašić, Živoslav Tešić. (2018). Polyphenol and sugar profile of buckwheat honey. *Proceeding 1st UNIFood Conference, University of Belgrade, 210th Anniversary*, Belgrade, Serbia, October 5th-6th, 2018.

Додатно, методологија испитивања полифенолног и шећерног профила, као и анализа физикохемијских параметара меда, претходно је објављена кроз још један рад (категорије M22) и четири саопштења са скупа међународног значаја штампаних у изводу (категорије M34).

Рад у истакнутом међународном часопису (M22):

1. Milica Nešović, Uroš Gašić, Tomislav Tošti, Jelena Trifković, Rada Baošić, Stevan Blagojević, Ljubiša Ignjatović, Živoslav Tešić (2020). Physicochemical analysis and phenolic profile of polyfloral and honeydew honey from Montenegro. *RSC Advances*, 10, 2462-2471, <https://doi.org/10.1039/C9RA08783D>

Саопштења са скупова међународног значаја штампана у изводу (M34):

1. Milica M. Nešović, Adrian B. Douglas, Tomislav B. Tosti, Jelena Trifković, Evaraldo Attard, Živoslav Lj. Tešić, Uroš M. Gašić. (2021). Characterization of Maltese honey harvested in different seasons by using physicochemical parameters and applied multivariate data analysis. *Proceeding 2nd UNIFood Conference, University of Belgrade, Belgrade, Serbia, September 24th-25th, 2021.*
2. Milica M. Nešović, Uroš M. Gašić, Živoslav Lj. Tešić. (2019). Polyphenol profile of honeydew and polyfloral honey from northern part of Montenegro. *Proceeding 1st International Conference on Advanced Production and Processing, ICAPP 2019, Faculty of Technology, University of Novi Sad, October 10th-11th, 2019.*
3. Milica Nešović, Uroš Gašić, Živoslav Tešić, Dušanka Milojković-Opsenica. (2018). UHPLC-LTQ OrbiTrap analysis of polyphenols in honey. *Proceeding 24th International Symposium on Separation Sciences, ISSS 2018, combined with 21st International Conference Analytical Methods and Human Health, AMHH, Jasna, Slovakia, June 17th-20th, 2018.*
4. Milica Nešović, Tomislav Tosti, Živoslav Tešić, Dušanka Milojković-Opsenica. (2018). HPAEC/PAD determination of sugar profile in honey. *Proceeding 24th International Symposium on Separation Sciences, ISSS 2018, combined with 21st International Conference Analytical Methods and Human Health, AMHH, Jasna, Slovakia, June 17th-20th, 2018.*

Д. Провера оригиналности докторске дисертације

Ђ. Закључак комисије

Резултати кандидата Милице Нешовић представљају значајан научни допринос за наведену тематику процене ботаничког порекла меда хељде. С обзиром да су из рада проистекла два рада објављена у научним часописима од истакнутог значаја (категорије M22) на којима је кандидат први аутор, остварен је услов за одбрану докторске дисертације. Уз наведено, објављена су и четири саопштења са скупова од међународног значаја (категорије M33 и M34) која су такође уско везана за тему докторске дисертације.

Објавом својих научних резултата у часописима од истакнутог значаја, кандидат је потврдио компетентност својих резултата, као и актуелност тематике којом се бавио. Поред тога, кандидат је успешно разрадио методологију анализе меда, што је додатно потврђено објављивањем још једног рада (катеорије М22) и четири саопштења (катеорије М34).

На основу свега изложеног, Комисија сматра да кандидат Милица Нешовић испуњава услове дефинисане Правилником о изради и оцени докторске дисертације на Факултету за физичку хемију Универзитета у Београду.

У складу с тим, Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета за физичку хемију Универзитета у Београду да рад Милице Нешовић под насловом „**Полифенолни профил, антиоксидациона активност и основни физичкохемијски параметри хедље и меда од хедље**“ прихвати као дисертацију за стицање звања научног степена доктора физичкохемијских наука и одобри њену јавну одбрану.

У Београду, 03.11. 2021. године

Чланови комисије

др Јасмина Димитрић Марковић, редовни професор,
Факултет за физичку хемију,
Универзитет у Београду

др Милош Мојовић, редовни професор,
Факултет за физичку хемију,
Универзитет у Београду

др Небојша Недић, ванредни професор,
Пољопривредни факултет, Институт за зоотехнику,
Универзитет у Београду