

# UNIVERZITET U BEOGRADU

## Tehnološko-metalurški fakultet

### NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU

### TEHNOLOŠKO – METALURŠKOG FAKULTETA

### UNIVERZITETA U BEOGRADU

**Predmet:** Referat o urađenoj doktorskoj disertaciji kandidata Marija Ranić, dipl.inž.tehnologije

Odlukom br. 35/227 od 05.06.2015. godine, imenovani smo za članove Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata Marije Ranić, dipl.inž. pod naslovom „**Antioksidativna aktivnost ekstrakata kafe i otpadne kafe i njihov uticaj na aktivaciju trombocita**“

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

25.03.2010. Na zahtev magistranta Marije Ranić, dipl.inž.tehnologije i predloga katedre za Biohemijsko inženjstvo i biotehnologiju, na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta, doneta je Odluka o prelasku kandidata sa magistarskih na doktorske studije. Marija Ranić je upisana na drugu godinu doktorskih studija, studijski program Biohemijsko inženjstvo i biotehnologija, pod mentorstvom dr Suzane Dimitrijević-Branković, vanrednog profesora.

29.06.2014. Kandidat Marija Ranić, dipl.inž.tehnologije predložila je Tehnološko-metalurškom fakultetu temu za izradu doktorske disertacije pod nazivom: „Antioksidativna aktivnost ekstrakata kafe i otpadne kafe i njihov uticaj na aktivaciju trombocita“

29.06.2014. Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta u Beogradu doneta je Odluka o imenovanju Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata za izradu doktorske disertacije.

6.11.2014. Na sednici Nastavno-naučnog veća Fakulteta doneta je Odluku o odobrenju teme doktorske disertacije kandidata. Za komentora ove doktorske disertacije imenovana je dr Marija Glibetić, naučni savetnik Instituta za medicinska istraživanja, Centar izuzetne vrednosti u oblasti istraživanja ishrane i metabolizma, Univerziteta u Beogradu

24.11.2014. Na sednici Veća naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu data je saglasnost na predlog teme doktorske disertacije kandidata Marije Ranić, dipl. inž. tehnologije,

pod nazivom „Antioksidativna aktivnost ekstrakata kafe i otpadne kafe i njihov uticaj na aktivaciju trombocita“.

04.06.2015. Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta u Beogradu doneta je Odluka o imenovanju Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata Marije Ranić, dipl. inž. tehnologije.

## **1.2. Naučna oblast disertacije**

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije pripadaju naučnoj oblasti Tehnološko inženjerstvo, uža naučna oblast Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija, za koju je matičan Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu. Na osnovu objavljenih radova u navedenoj naučnoj oblasti i dosadašnjeg iskustva u naučno-istraživačkom radu, konstatujemo da su imenovani članovi Komisije, kompetentni za ocenu i odbranu ove doktorske disertacije.

## **1.3. Biografski podaci o kandidatu**

Marija Ranić rođena je u Svilajncu, Republika Srbija 12.04.1968., gde je završila osnovnu i srednju školu. Diplomirala je 1994. godine na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu na smeru Organska hemijska tehnologija – grupa: tehnologija polimernih materijala i stekla stručno zvanje diplomirani inženjer tehnologije.

Po diplomiranju, Marija Ranić je u toku školske 1994.-1995. godine bila zaposlena na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu, finansirana od strane Ministarstva za nauku kao talenat za naučno-istraživački rad. Od jula 1996. godine je zaposlena u Institutu za medicinska istraživanja u Laboratoriji za ishranu i metabolizam kao istraživač pripravnik. U međuvremenu je stekla istraživačko zvanje istraživač saradnik u Centru izuzetne vrednosti u oblasti istraživanja ishrane i metabolizma, Instituta za medicinska istraživanja.

Školske 2002.- 2003. godine upisala je poslediplomske studije na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu na smeru Biohemija, a 2009. godine je prešla na doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu, studijski program Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija.

U okviru usavršavanja i sticanja novih znanja u oblasti istraživanja kojim se bavi, Marija Ranić je prošla veći broj obuka i treninga u zemlji i inostranstvu od kojih su najznačajniji „Food & Health Entrepreneurship Program (FHEP) one-week course open for international academic researchers and engineers working in the field of food science and nutrition to move ahead their research to the market“, Barselona, Španija, 27.-31. maja 2013., „FOCUS-BALKANS (Food Consumer Science in the Balkans, FP7) Training module about Food Consumer Science (Frameworks, Protocols and Networks for a better Knowledge of Food Behaviour)“, 22. – 23. juna 2009., Ohrid, Makedonija i „Training on structure, function and data entry systems of EuroFIR BASIS (FP6). Evaluation and inputting of compositional data on flavanones in plant foods“, februar - mart 2009., Institute for Food Research, Norwich, UK.

U toku dosadašnjeg naučnoistraživačkog rada, Marija Ranić je bila angažovana na više projekata koje finansira Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja RS: III 41030- Biološki mehanizmi, nutritivni unos i status polinezasićenih kiselina i folata: Unapređenje ishrane u Srbiji. (januar 2011.- decembar 2015.); TR31035 Primena biotehnoloških metoda u održivom iskorišćenju nus-proizvoda agroindustrije; (2011.- 2015); MNTRS 145071. Razvoj novih terapijskih postupaka u

prevenciji i lečenju bolesti jetre-uloga i mehanizam delovanja polinezasićenih masnih kiselina; (2006.-2010.).

Takođe, Marija Ranić je bila angažovana na više projekata iz FP7 i FP6 programa Evropske komisije: BACCHUS FP7 – Cardiovascular benefits from food Bioactives (2012.-2016.); EFSA (European Food Safety Authority) – Dietary monitoring tools for risk assessment (2012.-2013.); EuroFIR NEXUS FP7 – The EuroFIR Food Platform: Further integration, refinement and exploitation for its long-term self-sustainability (2011.-2013.); CHANCE FP7 – Low cost technologies and traditional ingredients for the production of affordable, nutritionally correct foods improving health in population groups at risk of poverty (2011.-2013.); BaSeFOOD FP7- Sustainable exploitation of bioactive components from the Black Sea Area traditional foods (2009.-2011.); EuroFIR FP6 – European Food Information Resource Network, working as a fully trained compositional evaluator for eBASIS database on the content of BioActive Compounds in plant based foods ( od 2009.- ); Eurreca FP6- EUropean micronutrient REcommendations Aligned, RA 2.7 Low Incomm and Immigrants; Spreading of Excellence (2007.-2011.).

Marija Ranić je autor i koautor ukupno 53 rada koji su publikovani u naučnim časopisima i saopšteni na naučnim skupovima. Od toga, 6 radova je publikovano u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21), 5 radova u međunarodnom časopisu (M23), 2 rada u časopisu međunarodnog značaja verifikovan posebnom odlukom (M24), 2 rada u časopisu nacionalnog značaja (M52), 2 rada u časopisu nacionalnog značaja (M53), 1 predavanje po pozivu sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M32), 1 saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini (M33), 22 saopštenja sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M34) i 12 saopštenja sa skupa nacionalnog značaja štampanih u izvodu (M64).

Na 3<sup>rd</sup> International EuroFIR Congress: European Food Composition Data for better Diet, Nutrition and Food Quality, održanom 8. do 10. Septembra 2009. u Beču, Austrija, osvojila je nagradu za najbolji poster pod nazivom „Evaluation and inputting of compositional data on flavanones in plant food in EuroFIR BASIS database“. Od 2009. do danas je angažovana u saradnji sa Institute for Food Research, Norwich, UK kao u potpunosti obučeni evaluator za unos kompozicionih podataka u eBASIS bazu podataka bioaktivnih supstanci ([http://ebasis.eurofir.org/scr\\_res.asp](http://ebasis.eurofir.org/scr_res.asp)).

Govori tečno engleski, služi se ruskim i francuskim jezikom.

## **2. OPIS DISERTACIJE**

### **2.1. Sadržaj disertacije**

Doktorska disertacija Marije Ranić, dipl. inž. tehnologije, pod nazivom „Antioksidativna aktivnost ekstrakata kafe i otpadne kafe i njihov uticaj na aktivaciju trombocita“ napisana je na ukupno 197 strana i sadrži 7 poglavlja, 62 slike (grafička prikaza), 33 tabele i 270 literaturnih navoda. Doktorska disertacija se sastoji od sledećih poglavlja: Uvod, Teorijski deo, Cilj rada, Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Zaključci i Literatura. Disertacija sadrži i izvode na srpskom i engleskom jeziku, izjavu zahvalnosti i 3 priloga (kao i 3 obavezna priloga, tj. izjave).

### **2.2. Kratak prikaz pojedinačnih poglavlja**

U Uvodu disertacije data su polazna osnova i razmatranja značaja mogućnosti iskorišćenja otpada dobijenog pri pripremi različitih tipova konzumne kafe (espresso i crne), kao potencijalnog izvora biološki aktivnih jedinjenja sa povoljnim efektima na zdravlje ljudi. Takođe, data je procena značaja konzumiranja kafe u prevenciji bolesti i promociji zdravlja zasnovano na sadržaju nutritivnih i nenu nutritivnih sastojaka. Na kraju Uvoda ukratko su dati predmet i osnovni naučni ciljevi doktorske disertacije.

U Teorijskom delu data su poglavlja koje pokrivaju opšte teme od istorijata, uzgoja kafe, botaničkog opisa, procesa industrijske prerade kafe, pečenje kafe i najnovijih podataka koji se odnose na proizvodnju i potrošnju kafe u svetu. Dalji pregled daje osvrt na pregled literature koji se odnosi na konzumiranje kafe i njen efekat na zdravlje ljudi, na osnovu brojnih do sada objavljenih istraživanja i meta analiza, sa posebnim osvrtom na značaj kofeina, hlorogenske kiseline, masnih kiselina i minerala. Data je procena značaja određivanja sadržaja nutritivnih i nenu nutritivnih sastojaka crne kafe na osnovu detaljne analize, zasnovane na međunarodno prihvaćenim kriterijumima kvaliteta. Takođe, dat je osvrt na Srpsku bazu podataka o sastavu namirnica, harmonizovane sa standardima Evropske mreže za izvore informacija o hrani (EuroFIR).

U okviru pregleda potencijalne biološke aktivnosti kafe, opisana je antioksidativna aktivnost kafe i otpadne kafe sa akcentom na ekstrakciju polifenola i optimizaciju procesa ekstrakcije uz pomoć metode odzivnih površina (*Response surface method - RSM*) korišćenjem ekstrakcije pomoću mikrotalasa (*Microwave assisted extraction - MAE*). Dat je prikaz metoda za određivanje antioksidativne aktivnosti kafe. Takođe, dat je pregled literature uticaja kafe, odnosno, polifenola na funkciju trombocita i u tom smislu je objašnjeno korišćenje protočne citometrije u ispitivanju funkcije trombocita.

Treće poglavlje disertacije prikazuje postavljene ciljeve disertacije.

Četvrto poglavlje se odnosi na Eksperimentalni deo. Metodologija eksperimentalnog rada u ovoj tezi je, prateći postavljene ciljeve, podeljena u tri dela i redom prikazana u tekstu. U prvom delu je opisan eksperimentalni dizajn određivanja nutritivnog i nenu nutritivnog sastava crne kafe u Srbiji u cilju produkcije podataka za unos u Srpsku bazu podataka o sastavu namirnica. Ovaj deo detaljno opisuje metode za procenu vrste i trgovačke marke najviše konzumirane kafe u Srbiji, pripremu uzorka, kao i analitičke metode za određivanje makronutrimenata (proteina, ukupnih lipida, ugljenih hidrata, vlakana i pepela), hlorogenske kiseline i kofeina, masnih kiselina i minerala.

U drugom delu, detaljno je opisana optimizacija procesa ekstrakcije jedinjenja polifenola iz taloga otpadne kafe (TOK) (espresso i crne), što obuhvata opis materijala i metoda, pripremu uzoraka i eksperimentalni dizajn optimizacije ekstrakcije fenolnih komponenti iz TOK espresso i crne kafe, primenom ekstrakcije pomoću mikrotalasa. Prikaz analize odgovora optimizovanog procesa ekstrakcije taloga otpadne espresso i crne kafe obuhvata određivanje ukupnog prinosa ekstrakcije, sadržaja ukupnih polifenola u dobijenim ekstraktima i antioksidativne sposobnosti ekstrakata TOK (ETOK) određenih DPPH i FRAP metodom.

U trećem delu Eksperimentalnog dela je opisano ispitivanje uticaja napitaka i ekstrakata taloga otpadne crne i espresso kafe na aktivaciju trombocita u *in vitro* uslovima, primenom protočne citometrije. U patološkim stanjima, povećana aktivacija trombocita povećava njihovu sklonost ka autoagregaciji i agregaciji sa drugim tipovima krvnih elemenata i krvnih ćelija kao što su monociti i neutrofilni. Agregacijom krvnih elemenata se povećava rizik od začepljenja krvnih sudova i pojave koronarnih, perifernih i cerebralnih vaskularnih bolesti. U okviru ovog dela opisani su postupci uzorkovanja krvi, određivanja parametara aktivacije trombocita kao i određivanja parametara agregacije trombocita sa monocitima i neutrofilima, *in vitro*. Aktivacija (indukcija agregacije) trombocita izvršena je dodatkom agonista ADP-a (adenozindifosfata), a kao odgovor, meren je broj antitela (anti-CD61, anti-CD62P i PAC-1), obeleženih fluorescentnim bojama na površini

trombocita, protočnom citometrijom (FACSCalibur, BD Biosciences, SAD). Smanjenje broja aktiviranih trombocita u odnosu na kontrolni uzorak, ukazuje na povoljni efekat primenjenih uzoraka kafe i otpadne kafe.

Poglavlje Rezultati i diskusija se, takođe, sastoji iz tri dela. U okviru predstavljanja analitičkih vrednosti glavnih nutrimenata i mineralnog sastava crne kafe, pržene, mlevene kafe i infuzija (slabe i jake), predviđenih za unos u Srpsku bazu podataka o sastavu namirnica, sve analitičke procedure, uključujući čuvanje uzoraka, analitički metod i internu i eksternu analitičku kontrolu kvaliteta, su sprovedene pod internom i eksternom procedurom kontrole kvaliteta, kao deo primenjenog akreditacionog programa (ISO/IEC 17025, 2005) i u skladu sa EuroFIR smernicama za laboratorijske analize date su u poglavlju Kontrola i obezbeđenje kvaliteta analitičkih podataka. Data je procena vrsta kafe koja se najviše konzumira u Srbiji, kao i koje se robne marke najviše kupuju. Na osnovu dobijenih pokazatelja dat je hemijski sastav kompozitnog uzorka crne kafe sačinjenog od deset vrsta crne kafe koja se najviše konzumira u Srbiji. Prikazan je sadržaj makronutrijenata (proteini, ukupni lipidi, ugljeni hidrati, vlakna, voda i pepeo), kofeina i hlorogenske kiseline, masnih kiselina, kao i mineralni sastav pržene mlevene kafe, sačinjenje kao kompozitni uzorak i infuzija (jake i slabe), pripremljenih na tradicionalni način pripreme crne kafe u Srbiji. Dobijeni analitički podaci ukazuju na to da sadržaj makronutrijenata crne kafe karakteriše niska energetska vrednost i umeren doprinos dijetarnom unosu makronutrijenata. Konzumiranje jake infuzije u frekvenciji od 200 ml (2 šolje) dnevno, može se smatrati značajnim za unos kalijuma sa doprinosom od 11% dnevnom referentnom unosu. Mada infuzije kafe sadrže  $\alpha$ -linoleinsku kiselinu, konzumiranje 1L crne kafe obezbeđuje samo oko 20 mg te kiseline. Uzimajući to u obzir, infuzija kafe se ne može smatrati značajnim dijetarnim izvorom n-3 masnih kiselina, koja je generalno niska kod stanovništva u Srbiji. Sadržaj kofeina u slaboj i jakoj infuziji ukazuje na generalno visok dnevni unos glavnih biološki aktivnih ne-nutritivnih sastojaka crne kafe među srpskim stanovništvom.

Drugi deo poglavlja rezultati i diskusija prikazuje optimizaciju procesa ekstrakcije polifenola iz taloga otpadne espresso i crne kafe, što uključuje diskusiju koja se odnosi na izbor rastvarača, zatim optimizaciju prinosa ekstrakcije otpadne kafe, optimizaciju sadržaja ukupnih polifenola i optimalne uslove ekstrakcije na osnovu DPPH i FRAP metode. Dati su optimalni uslovi vremena ekstrakcije (VE), snage mikrotalasa (SMT) kao i odnosa rastvarač – čvrsta faza (RČ) za dobijanje ekstrakata taloga otpadne espresso i crne kafe sa visokom antioksidativnom aktivnošću. Dato je slaganje eksperimentalnih sa modelom predviđenim vrednostima za ukupni prinos ekstrakcije, sadržaj polifenola, DPPH i FRAP vrednosti, kao i medjusobne korelacije. Predložen je ciklični proces ponovne upotrebe taloga otpadne espresso kafe. Prikazani rezultati sugerišu da MAE može biti efikasna tehnika za ekstrakciju polifenola iz otpadne espresso i crne kafe. Takođe, RSM se pokazao kao efikasan u proceni tri nezavisno promenljive (VE, RČ i SMT) na ekstrakciju polifenola iz otpadne kafe. Sa kraćim vremenom ekstrakcije, nižom korišćenom snagom mikrotalasa i srednjim odnosom rastvarača prema čvrstoj materiji, kao i sa minimalnom koncentracijom etanola može se dobiti polifenolni ekstrakt sa visokom antioksidativnom aktivnošću.

U trećem delu poglavlja rezultati i diskusija prikazani su rezultati ispitivanja uticaja napitaka kafe i ekstrakata taloga otpadne kafe na aktivaciju trombocita i njihovu agregaciju sa monocitima i neutrofilima u *in vitro* eksperimentalnim uslovima. Uzorci za ovu seriju eksperimenata su posebno pripremljeni primenom optimalnih uslova ekstrakcije, a odredjen je i prikazan njihov sadržaj bioaktivnih komponenti. Rezultati su pokazali da napici espresso i crne kafe inhibiraju ekspresiju P-selektina i u manjoj meri GPIIbIIa, kao markera aktivacije trombocita nakon delovanja ADP-a *in vitro*. Ovi efekti su delimično dozno zavisni. Pokazana dozna zavisnost izraženija je u delovanju napitka crne kafe. ETOK (espresso i crne) sa istim sadržajem ukupnih polifenola kao i napici, pokazali su izraženije delovanje u pogledu inhibicije ekspresije aktivacionih markera, P-selektina i GPIIbIIa, pri delovanju agoniste *in vitro*. Dobijeni rezultati takođe ukazuju na izraženo povoljno delovanje ETOK crne i espresso kafe na smanjenje agregacije trombocita sa

monocitima i neutrofilima, ključnim činiocima u etiologiji ateroskleroze, sa izaženijom doznom zavisnošću ETOK espresso kafe u odnosu na ETOK crne kafe. . Na osnovu prikazanih rezultata zaključeno je da polifenoli prisutni u ekstraktima taloga crne i espresso kafe imaju izraženije antitrombocitno delovanje u odnosu na polifenole prisutne u napicima, pri istim koncentracijama.

Dobijeni rezultati pokazuju da talog otpadne kafe predstavlja značajan izvor polifenola kao biološki aktivnih sastojaka kafe sa specifičnim antitrombocitnim delovanjem, koje potencijalno doprinosi plejotropnom (istovremeni uticaj na više fizioloških procesa) povoljnom efektu polifenola na kardiovaskularno zdravlje ljudi.

U poglavlju Zaključci sumirani su najznačajniji zaključci proistekli iz rada na ovoj disertaciji.

U osmom poglavlju disertacije data je Literatura, koja sadrži sve reference citirane u radu.

### **3. OCENA DISERTACIJE**

#### **3.1. Savremenost i originalnost**

Tema disertacije proistekla je iz činjenice da se ogromne količine otpadne kafe generišu svakodnevno u svetu kao čvrsti ostatak tokom procesuiranja kafe vrelom vodom ili parom. Polazeći od pretpostavke da bi do sada nedovoljno iskorišćeni otpad, nastao prilikom pripreme napitaka espresso i crne kafe, mogao biti potencijalni izvor bioaktivnih komponenti, doktorska teza je imala za cilj sprovođenje detaljnih ispitivanja mogućeg ponovnog iskorišćenja polifenola iz otpadne kafe, kao značajan doprinos definisanju otpadne kafe kao novog, jeftinog prirodnog izvora antioksidanasa i zamene za sintetičke antioksidanse. Detaljna analiza sastojaka crne kafe je preduzeta u cilju procene značaja konzumiranja kafe u prevenciji bolesti i promociji zdravlja zasnovanoj na sadržaju nutritivnih i ne-nutritivnih sastojaka. Ispitivanje potencijala polifenola, prisutnih u kafi, da moduliraju funkciju trombocita u smislu procene optimizacije ekstrakcije biološki aktivnih jedinjenja je racionalno, fiziološki relevantno, naučno zasnovano i svrsishodno za dalju primenu dobijenih ekstrakata kao sastojaka funkcionalnih proizvoda koji mogu da doprinesu promociji zdravlja i prevenciji bolesti.

#### **3.2. Osvrt na referentnu i korišćenu literaturu**

U doktorskoj disertaciji citirano je ukupno 270 referenci. U toku izrade teze, kandidat je koristio referentnu i aktuelnu literaturu, kao i veći broj radova koji predstavljaju meta analize do sada objavljenih istraživanja na određene teme koje se obrađuju u disertaciji. Oko 50 % referenci citiranih u ovoj doktorskoj disertaciji predstavljaju naučne radove publikovane u poslednjih pet godina, što ukazuje na aktuelnost teme ove doktorske disertacije. Najveći broj citiranih radova čine radovi iz međunarodnih časopisa sa tematikom značajnom za izradu doktorske disertacije.

#### **3.3. Opis i adekvatnost primenjenih naučnih metoda**

Svi eksperimenti su rađeni nakon pažljivog pregleda literature i izbora opreme, kontrole kvaliteta analitičkih podataka i korisnosti za sveobuhvatno sagledavanje problematike predložene teme.

Metodologija, koje se odnosi na način uzorkovanja, kvalitativnu analizu sastojaka napitka od kafe i unošenje u bazu podataka, uključujući parametre kvaliteta, u saglasnosti je sa kriterijumima EuroFIR-a, definisanim tehničkim aneksom, kao i važećim preporukama i standardima u oblasti analitike sastava namirnica (AOAC).

Metode istraživanja obuhvataju izvođenje eksperimenata za precizno definisanje optimalnih uslova ekstrakcije polifenola iz konzumne i otpadne kafe, praćenjem rezultata ekstrakcije na koji utiču različite promenljive primenom RSM, upotrebom centralnog kompozitnog  $2^3$  faktorijalnog eksperimentalnog dizajna. Za optimizaciju procesa i statističku analizu korišćen je programski paket Design Expert 8 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, USA).

Uticaj dobijenih ekstrakata na aktivnost trombocita i nivo reaktivnih vrsta u njima u *in vitro* uslovima, praćen je primenom protočne citometrije, na osnovu prethodno uspostavljenih ćelijskih modela. Protočna citometrija pune krvi predstavlja jedinstvenu tehniku kojom je moguće odrediti procenat konjugata trombocita i monocita, odnosno trombocita i granulocita u cirkulaciji.

### **3.4. Primenljivost ostvarenih rezultata**

Rezultati proistekli iz ove doktorske disertacije predstavljaju značajan doprinos održivosti sistema prerađivanja i potrošnje kafe, dajući smernice za usvajanje novih tehnologija koje maksimiziraju profitabilnost procesa. Analize i rezultati dobijeni u ovoj studiji mogu biti od velikog značaja za buduću eksploataciju otpadne kafe kao dragocenog izvora prirodnog antioksidanasa u industrijskim razmerama. Prikazani podaci mogu biti pouzdane smernice za proizvodnju obogaćene hrane ili dijetetskih suplemenata.

Dobijeni analitički podaci za crnu kafu (mlevena pržena kafa i infuzije, slaba i jaka) su uneti u Srpsku bazu podataka o sastavu namirnica i mogu dalje koristiti za tačnu procenu unosa makro-, mikronutrijenata kao i ne-nutritivnih jedinjenja, na osnovu različitih metoda za procenu dijetarnog unosa. To omogućava definisanje adekvatnih nutritivnih preporuka i zdravstvene politike na nacionalnom nivou, a takođe se mogu uzeti u obzir prilikom planiranja ishrane ili kao važno sredstvo u epidemiološkim randomiziranim kliničkim studijama.

Rezultatima proisteklim iz ove doktorske disertacije dokazana je efikasnost MAE polifenola iz TOK espreo i crne kafe korišćenjem RSM. Takođe, predložen je model za ciklično ponovno iskorišćenje espreo otpadne kafe, kao značajan doprinos definisanju otpadne kafe kao novog, jeftinog prirodnog izvora antioksidanasa i zamene za sintetičke antioksidanse.

Podaci o delovanju ekstrakata kafe i otpadne kafe na funkciju trombocita pružaju racionalnu osnovu za njihovu primenu kao funkcionalnih sastojaka hrane u promociji zdravlja (kao i relevantne dokaze o racionalnosti ispitivanja u okviru dijetarnih intervencija usmerenih i dodatnih naučnih dokaza neophodnih za dobijanje „zdravstvene izjave“.)

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

Kandidat Marija Ranić, dipl. inž. tehnologije, je tokom izrade doktorske disertacije pokazala veliku stručnost, inovativnost i sposobnost planiranja, primenom optimizacije primenjenih procesa, kao i realizacije eksperimenata. Izrazite istraživačke kvalitete je iskazala korišćenjem različitih instrumentalnih metoda (ekstrakcije asistirane mikrotalasima, gasne hromatografije, protočne citometrije), a pri analizi rezultata pokazala je samostalnost, sistematičnost i kreativnost. Na osnovu

dosadašnjeg rada i postignutih rezultata kandidata, Komisija je mišljenja da kandidat poseduje kvalitete neophodne za samostalni naučno-istraživački rad.

## **4. OSTVARENI NAUČNI DOPRINOS**

### **4.1. Prikaz ostvarenih naučnih doprinosa**

U okviru ove doktorske disertacije ostvaren je značajan doprinos održivosti sistema prerađivanja i potrošnje kafe koji može biti znatno poboljšan korišćenjem otpadne espresso i crne kafe, usvajanjem novih tehnologija koje maksimiziraju profitabilnost procesa. Takođe, pružena je racionalna osnova za primenu ekstrakata otpadne espresso i crne kafe kao funkcionalnih sastojaka hrane u promociji zdravlja. Analize i rezultati dobijeni u ovoj studiji mogu biti od velikog značaja za buduću eksploataciju otpadne kafe, kao dragocenog izvora prirodnih antioksidanasa u industrijskim razmerama. Prikazani podaci mogu biti pouzdane smernice za proizvodnju obogaćene hrane ili dijetetskih suplemenata.

Najznačajniji su sledeći ključni naučni doprinosi kao rezultat istraživanja:

- Unos dobijenih analitičkih vrednosti za crnu kafu, koja se najviše konzumira u Srbiji (pržena, mlevena kafa i infuzije, slaba i jaka), u Srpsku bazu podataka o sastavu namirnica, i razmenu kroz EuroFIR FoodEXplorer, meta-pretraživač, koji omogućava istovremeno pretraživanje 27 nacionalnih baza podataka namirnica, povezanih sa EuroFIR-om, kao pomoć u definisanju nutritivnih preporuka i uspostavljanju zdravstvene politike na nacionalnom nivou.
- Dokaz efikasnosti mikrotalasne ekstrakcije polifenola iz otpadne kafe uz korišćenje RSM u proceni efekata tri nezavisne promenljive na ekstrakciju pri određivanju optimalnih uslova u cilju postizanja maksimalnog prinosa ekstrakcije koristeći manje količine ne-toksičnih rastvarača sa znatno kraćim vremenom ekstrakcije;
- Predloženi model za ciklično ponovno iskorišćenje otpadne espresso kafe kao značajan doprinos definisanju otpadne kafe kao novog, jeftinog prirodnog izvora antioksidanasa i zamene za sintetičke antioksidanse;
- Podaci o delovanju ekstrakata kafe i otpadne kafe na funkciju trombocita za njihovu primenu kao funkcionalnih sastojaka hrane u promociji zdravlja (kao i relevantnih dokaza o racionalnosti ispitivanja u okviru dijetarnih intervencija usmerenih i dodatnih naučnih dokaza neophodnih za dobijanje „zdravstvene izjave“).

### **4.2. Kritička analiza rezultata istraživanja**

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije su koncipirana nakon sveobuhvatne analize literaturnih podataka koji se odnose na konzumiranje kafe i njen uticaj na zdravlje kao i razmatranja mogućnosti i racionalne osnove daljeg iskorišćenja otpadne kafe.

Kafa, popularni napitak, drugi je po količini potrošnje posle vode i jedan je od prehrambenih proizvoda kojim se najviše trguje u svetu, a kao rezultat pripreme, ogromne količine otpadne kafe se generišu kao čvrsti ostatak tokom procesuiranja kafe. Iako je pokazano da je otpad od pripremanja kafe jako bogat komponentama od interesa za industriju, kao što su ugljeni hidrati, proteini i fenolna jedinjenja, pomenuti otpad se još uvek ne koristi kao potencijalni izvor bioaktivnih komponenti u cilju proizvodnje obogaćene hrane ili dodataka ishrani.



Predstavljeni podaci mogu biti pouzdane smernice za izradu projekta punog opsega i samim tim dobra poslovna mogućnost za mala i srednja preduzeća u cilju proizvodnje obogaćene hrane ili dodataka ishrani sa farmakološkim dozama i procenjenom bezbednosti primenjenih doza.

Takodje, obzirom da je na osnovu rezultata istraživanja zaključeno da je crna kafa zastupljena u značajnim količinama u svakodnevnom unosu među stanovništvom Srbije, i da do sada nisu postojali analitički podaci za sastav pržene mlevene kafe i infuzija kafe (jake i slabe), unos originalnih podataka u Srpsku bazu podataka o sastavu namirnica doprinosi definisanju adekvatnih nutritivnih preporuka i zdravstvene politike na nacionalnom nivou koji se takođe mogu uzeti u obzir prilikom planiranja ishrane.

### **4.3. Verifikacija naučnih doprinosa**

Rezultati prikazani u doktorskoj disertaciji pod naslovom „Antioksidativna aktivnost ekstrakata kafe otpadne kafe i njihov uticaj na aktivaciju trombocita“, koju je uradio kandidat Marija Ranić, dipl. inž. tehnologije, potvrđeni su objavljivanjem radova u časopisima međunarodnog značaja i saopštavanjem rezultata na međunarodnim skupovima:

#### **1. Međunarodni časopisi:**

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

**Ranić, M.,** Konić-Ristić, A., Takić, M., Glibetić, M., Pavlović, Z., Pavlović, M., Dimitrijević-Branković, S.: Nutrient profile of black coffee consumed in Serbia: Filling a gap in the food composition database. *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 40, no. 0, pp. 61-69, 2015 (IF = 2.259; 5 Year IF=2.799) (ISSN 0889-1575)

**Ranic, M.,** Nikolic, M., Pavlovic, M., Buntic, A., Siler-Marinkovic, S., & Dimitrijevic-Brankovic, S. Optimization of microwave-assisted extraction of natural antioxidants from spent espresso coffee grounds by response surface methodology. *Journal of Cleaner Production*, vol 80, no. 0, pp. 69-79, 2014 (IF = 3.590; 5 Year IF = 4.088) (ISSN 0959-6526)

##### **2. Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M34)**

**Ranic, M.,** Pavlovic, M., Siler-Marinkovic, S., Dimitrijevic Brankovic, S. A study on total polyphenols content in spent coffee extracts (black, espresso and filter coffee), *Annals of nutrition and metabolism*, 2013, vol. 63, ISSN: 0250-6807, pp. 1655-1656.

**Ranic, M.,** Dimitrijevic-Brankovic, S., Arsic, A., Ivanovic, J., Milutinovic, M., Siler-Marinkovic, S. Fatty acid profiles of supercritical extracts of commercial espresso coffee and spent coffee. *Annals of nutrition and metabolism*, 2011, vol. 58, ISSN: 0250-6807, pp. 102-102.

Milutinovic, M., Siler – Marinkovic, S., **Ranic, M.,** Dimitrijevic – Brankovic, S. Total polyphenols and antioxidative activity of water extracts of spent coffee. *Annals of nutrition and metabolism*, 2011, vol. 58, ISSN: 0250-6807, pp. 396-397.

### **5. ZAKLJUČAK I PREDLOG**

#### **5.1 Kratak osvrt na disertaciju u celini**

Na osnovu svega navedenog, Komisija smatra da doktorska disertacija Marija Ranić, dipl. inž. tehnologije, pod naslovom: „Antioksidativna aktivnost ekstrakata kafe i otpadne kafe i njihov uticaj na aktivaciju trombocita“ ispunila ciljeve istraživanja i predstavlja značajan i originalan naučni doprinos u oblasti Tehnološko inženjerstvo (uža oblast Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija), što je potvrđeno objavljivanjem radova u vrhunskim naučnim časopisima međunarodnog značaja i saopštavanjem rezultata na međunarodnim skupovima.

## **5.2 Predlog Komisije Nastavno-naučnom veću**

Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta da se doktorska disertacija pod naslovom: „Antioksidativna aktivnost ekstrakata kafe i otpadne kafe i njihov uticaj na aktivaciju trombocita“, kandidata Marije Ranić, dipl. inž. tehnologije, prihvati, izloži na uvid javnosti i uputi na konačno usvajanje Veću naučnih oblasti tehničkih nauka Univerziteta u Beogradu, te da se nakon završetka ove procedure kandidat pozove na usmenu odbranu disertacije pred Komisijom u istom sastavu.

U Beogradu, 29.06.2015.

### **ČLANOVI KOMISIJE**

Prof. dr Suzana Dimitrijević Branković, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Marija Glibetić, naučni savetnik  
Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinska istraživanja

Prof. Dr Slavica Šiler-Marinković, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Prof. Dr Dušan Antonović, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet