

БРОЈ: 010-21141  
9.6.2018.

НОВИ САД

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ

Држ. досијеа: 29/13 Д

ОБРАЗАЦ 6.

ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовao комисију:</p> <p>11.05.2018., Наставно-научно веће Технолошког факултета у Новом Саду, Универзитет у Новом Саду</p>
<p>2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p>
<p>3.</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. <b>Др Сенка Видовић</b>, ванредни професор, фармацеутско инжењерство, изабрана у звање 22.06.2017., Технолошки факултет, Нови Сад,</li><li>2. <b>Др Јасна Мاستиловић</b>, ванредни професор, научни саветник, технологија биљних производа, изабрана у звање 07.12.2011., Научни институт за прехранбене технологије, Нови Сад</li><li>3. <b>Др Бранислава Николовски</b>, ванредни професор, хемијско инжењерство, изабран у звање 01.10.2016., Технолошки факултет, Нови Сад</li><li>4. <b>Др Бранимир Павлић</b>, доцент, фармацеутско инжењерство, изабран у звање 25.01.2018., Технолошки факултет, Нови Сад</li></ol>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме:</p> <p><b>Алена (Мицхал) Томшик</b></p>
<p>2. Датум рођења, општина, држава:</p> <p><b>31.01.1988. Нови Сад, Нови Сад, Србија</b></p>
<p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив:</p> <p><b>Технолошки факултет, фармацеутско инжењерство, мастер инжењер технологије</b></p>
<p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија</p> <p><b>2013. фармацеутско инжењерство</b></p>

5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране:

6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука:

**III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

**Сушење и екстракција листа сремуша (*Allium ursinum* L.) у циљу добијања функционалних производа са биоактивним потенцијалом**

**IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

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

Докторска дисертација је изложена у 7 поглавља и има следећу структуру:

1. Увод
2. Општи део
3. Материјал и методе
4. Резултати и дискусија
5. Закључци
6. Литература

Дисертација је написана на 184 страна, А4 формата, са 50 слика, 27 табела и 291 литературних навода. Иза прве странице стоји кључна документацијска информација на српском и енглеском језику. Након тога следе горе поменута поглавља.

## V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Наслов докторске дисертације је јасно формулисан и сажето дефинише тематику и садржај дисертације.

**Увод** представља кратак осврт на проблематику истраживања и савремене трендове у прехранбеној и фармацеутској технологији. Објашњена је потреба за истраживањима везаним за изоловање биоактивних једињења из природних извора. Комисија сматра да су проблем, предмет и циљ истраживања у дисертацији постављени концизно и јасно и да су успешно водили кандидата кроз рад на изабраној теми.

У **другом поглављу** приказана су досадашња релевантна научна сазнања везана за испитивану област. Анализирани су резултати рада великог броја публикованих резултати од значаја за област истраживања и размотрене су теоријске основе проблема истраживања. Приказ научних сазнања груписан је у одвојене целине, са свим битним сегментима који су обрађивани у оквиру ове дисертације. Приказан је детаљан опис и распрострањеност испитиване биљне врсте, сремуша, приказани су досадашњи резултати испитивања нутритивног састава и биоактивних једињења као и фармаколошко деловање сремуша. Детаљан преглед хемијског састава и фармаколошко деловање сремуша указује на актуелност истраживања и потребу за развојем нових производа од сремуша у форми различитих екстракта. У наредним целинама описане су и анализиране различите технологије складиштења које се могу применити у циљу очувања биоактивних једињења сремуша у свежем стању, као и различите технике сушења које се могу применити у циљу добијања сувог сремуша богатог биоактивним једињењима, а који се као такав даље може применити за добијање различитих течних и сувих екстраката. Посебна пажња посвећена је иновативним екстракционим техникама. Описани су принципи иновативних екстракционих техника, њихове карактеристике, предности и недостаци. Истакнута је потреба за иновацијама и развојем савремених техника које могу да одговоре на изазове и услове које поставља „зелена“ технологија, за разлику од конвенционалних екстракционих техника. У овом поглављу анализирани су и детаљно су приказане и енкапсулационе технике и истакнута је потреба за енкапсулацијом у циљу добијања стабилних производа-сувих екстраката.

У поглављу **Материјал и методе** су прецизно објашњени експериментални поступци и јасно су дефинисане, како аналитичке, тако и рачунске методе примењене за обраду експерименталних података. Описани су примењени поступци, складиштења, сушења, екстракције и енкапсулације, методе анализирања физичко-хемијских карактеристика свежег листа сремуша, осушеног листа сремуша и течних и енкапсулираних екстраката листа сремуша. За анализу биоактивних једињења коришћене су савремене спектрофотометријске и хроматографске методе. Одређивање биолошке активности добијених екстраката је извршено *in vitro* тестовима за одређивање антиоксидативне активности, док је антимикуробни потенцијал испитан на неколико сојева Грам позитивних и Грам негативних бактерија.

У поглављу **Резултати и дискусија** резултати истраживања су адекватно продискутовани у складу са постављеним циљевима истраживања. Резултати су прегледно дати у табелама, приказани на сликама и образложени на методолошки разумљив и прегледан начин.

Први део резултата се односи на испитивање услова складиштења свежег листа сремуша како би се сагледала трајност сремуша за конзумирање у свежем стању, али и могућност примене ускладиштеног сремуша за екстракцију биоактивних једињења. У другом делу резултата приказан је утицај различитих техника сушења (конвективно и вакуумско

сушење) и температуре сушења (40, 50, 60, 70 °C) на садржај биоактивних компоненти у осушеном производу.

У трећем делу резултата приказани су резултати добијени анализом различитих екстракција. Анализиран је утицај екстрагенса на принос екстракције биоактивних једињења у екстрактима добијеним применом мацерације. У екстрактима добијеним применом ултразвучне екстракције анализиран је утицај температуре, снаге ултразвука, времена трајања екстракције као и утицај екстрагенса на садржај полифенолних једињења и антиоксидативну активност. У анализи екстракције сремуша субкритичном водом испитан је утицај температуре, трајања екстракције као и утицај додаток модификатора на садржај полифенолних једињења и антиоксидативну активност добијених екстраката. Применом методе одзивне површине (*RSM*) одређени су оптимални услови ултразвучне екстракције и екстракције субкритичном водом у циљу добијања екстракта са истовременим максималним садржајима фенола и флавоноида, као и највећом антиоксидативном активношћу. Анализиран је такође и утицај температуре и притиска на принос екстракције и садржај сумпорних једињења у екстрактима листа сремуша који су добијени применом суперкритичног угљен-диоксида. Применом спектрофотометријских и хроматографских метода утврђен је хемијски састав добијених екстраката.

Четврти део резултата обухвата резултате добијене анализом енкапсулационих техника *spray drying* и *spray coagaling* технике. Одабрани екстракти (оптимални екстракт добијен екстракцијом субкритичном водом и екстракцијом суперкритичним угљен-диоксидом) су енкапсулирани одговарајућим енкапсулационим техникама у циљу добијања прашкасте форме екстракта у циљу повећања стабилности екстраката. Анализирани су параметри енкапсулације који утичу на ефикасност самог процеса, као и физичко-хемијске особине добијених прашкастих форми екстраката.

Пети део резултата приказаних у овој докторској дисертацији обухвата испитивање антимикробног потенцијала одабраних екстраката и енкапсулираног суперкритичног екстракта на разне сојеве Грам позитивних и Грам негативних бактерија.

У поглављу **Закључци**, закључци су јасно и концизно изведени из резултата и њихове дискусије, те се могу сматрати научно заснованим и одговарајућим у односу на постављени циљ дисертације.

У поглављу **Литература** наведено је 291 референци које су консултоване током израде дисертације. Литература је цитирана на адекватан начин, а избор референци је актуелан 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**

### **Радови у врхунским међународним часописима M21**

**Tomšik, A., Pavlić, B., Vladić, J., Ramić, M., Brindza, J., Vidović, S.** (2016). Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L.). *Ultrasonics sonochemistry*, 29, 502-511. M21a

**Tomšik, A., Pavlić, B., Vladić, J., Cindrić, M., Jovanov, P., Sakač, M., Mandić, A., Vidović, S.** (2017). Subcritical water extraction of wild garlic (*Allium ursinum* L.) and process

optimization by response surface methodology. *The Journal of Supercritical Fluids*, 128, 79-88. M21

#### Радови у истакнутим међународним часописима M22

Radusin, T., **Tomšik A.**, Šarić Lj., Ristić I., Giacinti Baschetti M., Minelli M., Novaković A.. "Hybrid Pla/wild garlic antimicrobial composite films for food packaging application." *Polymer Composites*, <https://doi.org/10.1002/pc.24755>

#### M33

**Tomšik A.**, Radojčin M., Stamenković Z., Pavkov I., Kevrešan Ž., Mastilović J., Vidović S.: Convective drying and preservation of functional ingredients of wild garlic (*Allium ursinum*) in dependence of drying temperature, International Congress "Food Technology, Quality and Safety" and XVII International Symposium "Feed Technology", Novi Sad 25- 27 October, 2016, pp 531-535

**Tomšik A.**, Mastilović J., Kevrešan Ž., Vidović S.: Shelf life of ramsons (*Allium ursinum* L.) under different storing conditions, International Congress "Food Technology, Quality and Safety" and XVII International Symposium "Feed Technology", Novi Sad 25- 27 October, 2016, pp 646-650

#### M34

**Tomšik A.**, Mastilović J., Kevrešan Ž. Vacuum drying of wild garlic (*Allium ursinum* L.) as a way to preserve its bioactivity, International Scientific and Professional Conference „With Food to Health” Osijek, Croatia, 12-13 October 2017, pp 137-137, ISBN 9789537005498

**Tomšik A.**, Mastilović J., Kevrešan Ž., Vidović S.: Evaluation of packaging solutions for extension of postharvest shelf life of ramsons (*Allium ursinum* L.), 4. International conference on Food Innovation, FoodInnova, Čezena, Italy 31 January- 03 February, 2017, pp. 200-200, ISBN 978-2-12-345680-3

**Tomšik A.**, Novaković A., Radusin T., Šarić Lj., Mastilović J., Vidović S.: Antimicrobial potential of *Allium ursinum* extract, 4. International conference on Food Innovation, FoodInnova, Čezena Italy, 31 January- 03 February, pp. 245-245, ISBN 978-2-12-345680-3

**Tomšik A.**, Vladić J., Cindrić M., Vidović S., Antioxidant activity of wild garlic extract (*Allium ursinum*) obtained by subcritical water extraction, Euro Chemisrty Congres, Rome 16-18 June 2016, Vol. 7, No. 2, ISBN 2150-3494, pp 131

#### M62

**Tomšik A.**, Pavlič B., Jokić S., Aladić K., Vidović S.; Ekstrakcija sremuša (*Allium ursinum* L.) supekritičnim ugljen-dioksidom, Production and marketing of medicinal and aromatic plants and spices; Bački Petrovac, 2015. pp 10.

#### M64

**Tomšik A.**, Pavlič B., Uticaj rastvarača na ekstrakciju aktivnih komponenti sremuša (*Allium ursinum* L.), 3. konferencija mladih hemičara Srbije, Belgrade 28. October 2015, pp 17

#### M83

**Tomšik A.**, Radusin T., Mastilović J., Kevrešan Ž., Jakšić A., Produženje trajnosti sremuša, 2017, <http://www.iii46001.fins.uns.ac.rs/index.php?page=tehnicka-resenja>

## VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

- Како би се очувале сензорске и нутритивне карактеристике свежег листа сремуса, температуру складиштења је потребно подесити на 4 °C, док је на температури од 11 и 18 °C чување могуће али за знатно краће време. Да би био прихватљив за потрошаче листови сремуса се могу успешно чувати на температури од 4 °C складиштени у свежењевима зароњеним у воду или паковани у модификованој атмосфери у трајању од 15 дана.
- Иако временом лист сремуса губи сензорска својства и више није прихватљив за потрошаче, у погледу визуелних карактеристика и мириса, током складиштења долази до акумулације активних једињења као што су феноли и тиосулфинати те су листови сремуса након складиштења богатији овим биоактивним једињењима. Због високог садржаја тиосулфината и фенола овакви листови сремуса су погодни за изоловање биоактивних једињења и за њихову даљу примену у функционалним производима.
- Са аспекта очувања садржаја биоактивних једињења (укупних фенола и тиосулфината) у процесу сушења листа сремуса најбољи ефекти су постигнути применом конвективног поступка сушења на ниској температури сушења (40 °C). Међутим, овај поступак због дугог трајања сушења (9 h), са аспекта искоришћења капацитета и са аспекта утрошка енергије, не представља оптимално решење. Сходно томе, као оптимално решење за сушење листа сремуса, са аспекта минимизирања укупног времена сушења и избегавање негативних ефеката на садржај термолабилних компоненти, може се препоручити вакуумско сушење уз примену умерених температура.
- У случају примене ултразвучне екстракције утврђено је да се оптимални ефекти екстракције постижу применом 70% етанола као екстрагенса на температури од 80 °C и снази ултразвука од 20,06 W/l у трајању од 80 мин. При овим условима остварује се највећи принос екстракције (38,1%) и екстрахује се највећи садржај укупних фенола (1,60 g /100 g CM, укупних флавоноида (0,35 g KE/100 g CM), а екстракти добијени на овим условима показују антиоксидативна активност IC<sub>50</sub> од 0,71 mg/ml.
- Применом екстракције субкритичном водом екстракт најбољих карактеристика добијен је при температури од 200 °C и времену екстракције од 10 мин, уз додаток 1,09% HCl. При овим условима остварен је принос екстракције од 50,85%, екстраховано је 4,11 g ЕГК/100 CM укупних фенола, 0,66 g KE/100 g CM укупних флавоноида, а добијени екстракти имали су следећу антиоксидативну активност: IC<sub>50</sub>= 0,013 mg/ml добијено у ДППХтесту и АБТС, 1223 mM ТЕКС/100 g CM за АБТС тест).
- Приликом екстракције субкритичном водом дошло је до настанка индикатора Маилардове реакције.
- Ултразвучном екстракцијом екстрахују се већином фенолне киселине. Резултати хроматографских испитивања упућују на претпоставку да се у екстракту добијеном субкритичном екстракцијом налазе једињења типа фенилпорпаноида и флавоноида, претежно деривати кемферола. Екстракт добијен ултразвучном екстракцијом је богатији у погледу сумпорних једињења, алицина, алил сулфида, диалил сулфида и S-

метилестар метантиосулфонске киселине у односу на субкритични екстракт. Према томе субкритична водена екстракција је погоднија за изоловање фенолних једињења, деривата кемферола, док је ултразвучна екстракција 70% етанолом погодна за изоловање сумпорних једињења. У складу са овим чињеницама одговарајућу технику екстракције треба изабрати на основу циљаних једињења.

- У случају примене суперкритичне CO<sub>2</sub> екстракције, утврђено је да се са повећањем притиска повећава принос екстракције, због повећања солватационе моћи, односно густине. Највећи принос екстракције (3,43%) је постигнут на највишој примењеној температури (60 °C) и највишем примењеном притиску (400 bar).
- Анализом података о садржају појединих сумпорних једињења у екстракту добијеном применом суперкритичне екстракције угљен-диоксидом утврђено је да се највећи садржај алицина добија на екстракционом притиску од 400 bar и 200 bar, док се на притиску од 200 bar добија и највећи садржај диалил трисулфида, алил сулфида и S-метил естра метанетиосулфонске киселине. Сходно томе, температура од 50 °C и притисак од 200 bar су најпогоднији параметри суперкритичне екстракције за добијање екстракта са високим садржајем сумпорних биоактивних једињења.
- На основу хроматографских анализа екстраката добијених на оптималним условима ултразвучне екстракције и екстракције субкритичном водом, закључује се да је екстракт добијен на оптималним условима екстракције субкритичном водом богатији полифенолним једињењима, док је екстракт добијен на оптималним условима ултразвучне екстракције богатији сумпорним једињењима. У складу са овим чињеницама, одговарајућу технику екстракције треба изабрати на основу циљаних једињења.
- За потребе добијања стабилније форме односно сувог екстракта сремуша, уз примену *spray drying* технике, најбољи ефекти у погледу физичких карактеристика (садржај влаге, хигроскопност, насипна запремина, брзина растварања, индекс апсорпције воде и индекс растворљивости у води) и садржаја укупних фенола, укупних флавоноида и антиоксидативне активности остварени су при додатку 80% малтодекстрина и сушењу на улазној температури од 120 и 140 °C и излазној температури од 80 °C. Због неефикасности процеса или високог садржаја влаге екстракти добијени при мањим уделима малтодекстрина (10 и 40%) имали би ограничења за даљу употребу у прехранбеној или фармацеутској индустрији. Применом *spray congealing* технике енкапсулиран је одабран екстракт листа сремуша добијен екстракцијом суперкритичним CO<sub>2</sub>.
- Анализом стабилности енкапсулираних честица, утврђено је да након 3 месеца складиштења добијених честица енкапсулираног суперкритичног екстракта током процеса складиштења није дошло до значајних термичких или хемијских промена. Током три месеца складиштења дошло је до редукције алицина унутар микрочестица за само 3%, док је редукција за S-метилестар метантиосулфонску киселину износила 16,5%. Овако мали степен редукције, нарочито за алицин, чини Gelucire® 50/13 одговарајући носач за очување биоактивног потенцијала енкапсулираног екстракта.
- Водени и суперкритични екстракти сремуша добијени при оптималним условима утврђеним у овој дисертацији имају изражено антибактеријско деловање. Субкритични водени екстракт сремуша је показао најснажније антибактеријско деловање при концентрацији од 30 mg/ml, где након 24 h инкубирања није детектовано присуство нити једног од испитиваних патогена (Грам позитивне (*L. monocytogenes*, *E. faecalis*) и

Грам негативне (*S. Enteritidis*, *E. coli*, *P. hauseri*) па се ова концентрација може сматрати минималном инхибиторном концентрацијом (МИС). Водени екстракт је при свим тестираним концентрацијама најјачу антибактеријску активност испољио према *L. monocytogenes*.

- Резултати антибактеријског теста екстракта добијеног суперкритичном CO<sub>2</sub> су показали потпуну инхибицију на све сојеве *P. hauseri*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. coli*, *S. Enteritidis*, док су резултати микрочестица са 5% енкапсулираног екстракта сремуша показали различиту антибактеријску активност на тестиране бактерије услед мање концентрације екстракта у микрочестицама. Анализом антибактеријских својстава енкапсулираног екстракта, након 3 месеца складиштења, утврђено је да су честице са 5% екстракта и даље задржале антибактеријски потенцијал, али се антибактеријска активност делимично смањила у случају *S. aureus* и *S. Typhimurium*.
- На основу хемијског састава може се закључити да антимикуробно деловање испитиваног суперкритичног екстракта и енкапсулираног суперкритичног екстракта потиче од садржаја сумпорних једињења, пре свега алицина и S-метилестара метантиосулфонске киселине, док је код воденог екстракта на антимикуробно деловање утицало и присуство фенолних једињења.



## VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

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

Резултати мерења и прорачуна су приказани прегледно и систематично, помоћу табела и графика који олакшавају њихово тумачење. Сви графици су испраћени адекватним текстуалним описом резултата прорачуна и одговарајућим коментарима, тако да чине целину која веома добро описује сваки добијени резултат. Интерпретација резултата је концизна. Дискусије, коментари и закључци дати у раду логично произилазе из добијених резултата за све претпостављене вредности параметара, који описују реална стања посматране структуре. Приказ резултата истраживања, у целој дисертацији, заједно са пратећим тумачењима, се процењује као веома квалитетан. Све горе наведено указује да је кандидат темељно упознат са тематиком дисертације и стања у истраживању дате научне области.

Стога, Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачења резултата истраживања.

## IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE 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:

Да, дисертација је у целини написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе:

Да, дисертација садржи све битне елементе.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци:

Дисертација представља оригиналан допринос науци у више поља. Основни допринос науци ове докторске дисертације је у свеобухватности истраживања листа сремуша у циљу добијања различитих производа (сувог листа, течног екстракта и сувог екстракта) са максималним садржајем биоактивних једињења. У пољу екстракције лековитих биљних сировина, систематичним приступом су испитани процеси добијања екстракта сремуша применом савремених „зелених“ техника екстракције, урађена је њихова анализа и оптимизација, те дефинисани процесни параметри при којима се добијају екстракти оптималног квалитета у погледу жељених биоактивних једињења. Такође је испитан процес енкапсулације добијених екстраката применом две различите енкапсулационе технике, *spray drying* и *spray congealing*, у циљу добијања нове-суве форме екстраката, одговарајућих физичких и хемијских карактеристика, и у циљу одржања и продужења стабилности оваквог производа. Осим тога, анализа антиоксидативне и антимицробне активности пружа значајан научни резултат и допринос, јер даје увид у могућности примене екстракта листа сремуша у фармацеутским и прехранбеним производима.

**X ПРЕДЛОГ:**

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију под називом „Сушење и екстракција листа сремуса (*Allium ursinum* L.) у циљу добијања функционалних производа са биоактивним потенцијалом“, кандидата Алене Томшик и предлаже да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана.

У Новом Саду, 23.05.2018.

Др Сенка Видовић, ванредни професор  
Технолошки факултет, Универзитет у Новом Саду

Др Јасна Мاستиловић, научни саветник  
Научни институт за прехранбене технологије, Универзитет у Новом Саду

Др Бранислава Николовски, ванредни професор  
Технолошки факултет, Универзитет у Новом Саду

Др Бранимир Павлић, доцент  
Технолошки факултет, Универзитет у Новом Саду

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.