

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ
кандидата Јелене Милинковић Будинчић

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовao комисију 15.3.2019. године, Наставно- научно веће Технолошког факултета Нови Сад</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>Др Јарослав Катона, ванредни професор, Технолошко-инжењерске хемије, изабран 1.10.2017. године, Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад, председник комисије;</p> <p>Др Лидија Петровић, ванредни професор, Фармацеутско инжењерство, изабрана 21.04.2016. године, Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад, ментор;</p> <p>Др Јадранка Фрај, доцент, Фармацеутско инжењерство, изабрана 1.10.2017. године, Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад, члан;</p> <p>Др Љиљана Ђекић, ванредни професор, Фармацеутска технологија, изабрана 14.11.2017. године, Универзитет у Београду-Фармацеутски факултет, члан.</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Јелена Радош Милинковић Будинчић</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 15.6.1986. године, Крагујевац, Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Универзитет у Београду-Фармацеутски факултет, Фармација-интегрисане академске студије, дипломирани фармацеут</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2011. година, Фармацеутско инжењерство</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:
Примена система хитозан-јонска површински активна материја за добијање микрокапсула уљног садржаја

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Докторска дисертација кандидата дипл. фарм. Јелене Милинковић Будинчић је написана на 103 стране на српском језику. Дисертација садржи 7 поглавља, 148 референци, 46 слика и 9 табела. Кључна документација са изводом на српском и енглеском језику дата је на почетку докторске дисертације.

Списак поглавља:

1. **Увод** (стр. 1-2)
2. **Теоријски део са прегледом литературе** (стр. 3-40)
3. **Експериментални део** (стр. 31-49)
4. **Резултати и дискусија** (стр. 50-87)
5. **Закључци** (стр. 88-90)
6. **Литература** (стр. 91-102)
7. **Прилог** (стр. 103).

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У оквиру првог поглавља **Увод**, јасно су дефинисани предмет и проблем истраживања, потреба за истраживањем, циљ и очекивани резултати докторске дисертације. Указано је на значај примене биополимера хитозана у процесима микрокапсулације, а истакнута је и примена микрокапсулираних активних материја у савременим формулацијама прехранбене, фармацеутске и козметичке индустрије.

Поглавље **Теоријски део са прегледом литературе** даје систематичан преглед досадашњих научних сазнања у области која је предмет докторске дисертације. На самом почетку поглавља дате су физичко-хемијске особине хитозана, његово добијање, примена и умрежавање, са посебним акцентом на његов значај у савременим истраживањима. Затим следе особине површински активних материја, са посебним освртом на натријум-додецил-сулфат (СДС) и натријум-лаурилетар-сулфат (СЛЕС) као јонским површински активним материјама које могу ступати у интеракцију са супротно наелектрисаним полимерима. Дате су и теоријске основе интеракција полимера у раствору, са посебним акцентом на интеракције хитозана и полимера, као и хитозана и површински активних материја о којима постоји мали број научних публикација, што указује на изузетан теоријски и практичан значај истраживања у овој области. Укратко су приказани носачи активних супстанци, са освртом на емулзионе носаче и видове нестабилности ових система. Детаљно су објашњени и механизми коацервације у растворима полимера, при чему је указано на њен практичан значај.

Истакнуте су најзначајније физичко-хемијске особине и утицај на људско здравље витамина Е и уља коштица грождја, који су коришћени као активне материје у процесу микрокапсулације. На крају овог поглавља дат је и опсежан литературни преглед савремених поступака микрокапсулације, са нагласком на микрокапсулацију методом коацервације.

Експериментални део садржи карактеристике материјала и детаљан опис уређаја и експерименталних процедура које су примењене за реализацију постављених циљева. Најпре је описана карактеризација самог хитозана. Затим, поступци припреме раствора хитозана, јонских површински активних материја и њихових смеша. У оквиру наредних целина детаљно су описане методе (турбидиметрија, тензиометрија, вискозиметрија, мерење електрофоретске покретљивости и зета потенцијала) коришћене за испитивање интеракција у систему хитозан-јонска површински активна материја. Затим су описани поступци припреме емулзија, као и методе испитивања њихових особина, седиментационе стабилности и величине и расподеле величина капи. У наредном сегменту описан је поступак формирања микрокапсула и њиховог издвајања из раствора применом *spray drying* поступка. Описани су поступци карактеризација микрокапсула, испитивање морфологије површине применом електронске микроскопије, испитивање садржаја воде и ефикасности инкапсулације витамина Е његовом екстракцијом из микрокапсула и спектрофотометријским одређивањем концентрације витамина. У последњем делу овог поглавља описан је поступак испитивања кинетике ослобађања витамина Е из микрокапсула применом модел зависног поступка, односно фитовањем експерименталних података математичким моделима.

Коришћени су следећи модели: *Higuchi* модел, кинетика нултог реда, кинетика првог реда и *Korsmeyer-Peppas* модел.

Четврто поглавље, **Резултати и дискусија**, садржи приказ и дискусију добијених резултата истраживања.

С обзиром да је као материја омотача одабран хитозан, биополимер са слабо израженом површинском активношћу, у првом делу дисертације испитана је могућност формирања површински активних комплекса са јонским површински активним материјама. Најпре су приказани резултати испитивања интеракција између хитозана и СДС, а затим интеракције између хитозана и СЛЕС. Добијени резултати на основу мерења мутноће, електрофоретске покретљивости, тензиометријских и вискозиметријских мерења, указују на присуство интеракције, која доводи до формирања комплекса хитозан/СДС за све испитиване рН вредности, као и за све испитиване концентрације хитозана. Механизми интеракције, као и карактеристике формираног комплекса хитозан/СДС, у великој мери зависе од њиховог масеног односа у смеси, док испитивани интервал рН нема значајан утицај. Вискозиметријска и тензиометријска мерења су показала да, као последица интеракција у систему, долази до значајних промена како у раствору, тако и на граници фаза. Затим су на исти начин испитане интеракције између хитозана и СЛЕС, који за разлику од СДС поседује етиленоксидне групе и има могућност комбинације предности анјонског и нејонског типа површински активних материја. На основу испитане интеракције одабрани су односи како хитозан:СДС, тако и хитозан:СЛЕС за наставак испитивања.

Трећа целина експерименталног рада односила се на испитивања адсорпционих особина хитозана и његових комплекса са одабраним јонским површински активним материјама на граници фаза У/В на основу којих је за испитивање могућности добијања стабилних емулзија У/В са две врсте уља (уље коштица грожђа, триглицериди средње дужине угљоводоничних ланаца) одабрана смеша хитозан-СЛЕС. Резултати испитивања особина добијених емулзија (стабилност са временом, величина и расподела величина капи) показали су да се емулзије најбољих особина добијају емулговањем триглицериди средње дужине угљоводоничних ланаца у воденом раствору смеше хитозан:СЛЕС масеног односа 1:2. Из ових разлога су микрокапсуле са инкорпорираним витамином Е добијане управо у овим условима.

Завршна фаза експерименталног рада односила се на формирање микрокапсула и њихову карактеризацију. Умрежавањем комплекса хитозан/СЛЕС, адсорбованог на капима уља, помоћу умреживача (формалдехид, глутаралдехид) у различитим уделитема у односу на хитозан, добијене су микрокапсуле, које су из раствора издвојене распршивањем у струји топлог ваздуха (*spray drying* поступак). Карактеризација микрокапсула обухватила је испитивање морфологије површине, садржај воде, ефикасност инкапсулације витамина Е и кинетике отпуштања витамина Е, у зависности од удела умреживача. Применом модел зависне анализе дефинисани су механизми отпуштања витамина Е из микрокапсула.

У поглављу **Закључци**, детаљно и јасно су приказана разматрања и изведени закључци који су проистекли из спроведених истраживања у оквиру ове докторске дисертације.

У шестом поглављу **Литература**, на основу наведеног списка литературе уочава се да је кандидат у току израде докторске дисертације користио савремене резултате истраживања из проблематике која је тема докторске дисертације.

У **Прилогу** су графички приказане крива одређивања степена деацетиловања хитоазана и крива одређивања критичне *overlap* концентрације хитозана, које нису приказане у делу Резултати и дискусија.

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

Радови проистекли из истраживања у оквиру рада на докторској дисертацији:

Рад у истакнутом међународном часопису, М-22

1. **Milinković Jelena**, Petrović Lidija, Fraj Jadranka, Bučko Sandra, Katona Jaroslav, Spasojević Ljiljana, Interfacial and emulsifying properties of chitosan/sodium lauryl ether sulfate system, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 557 (2018) 9-13

2. Petrović Lidija, **Milinković Jelena**, Fraj Jadranka, Bučko Sandra, Katona Jaroslav, Spasojević Ljiljana, Study of interaction between chitosan and sodium lauryl ether sulfate, Colloid and Polymer Science, 295 (2017) 2279–2285

Рад у међународном часопису, М-23

1. Petrović Lidija, **Milinković Jelena**, Fraj Jadranka, Bučko Sandra, Katona Jaroslav, An investigation of chitosan and sodium dodecyl sulfate interactions in acetic media, Journal of Serbian Chemical Society, 81 (5) (2016) 575-587

Рад у часопису међународног значаја верификованог посебном одлуком, М-24

1. **Milinković Jelena**, Aleksić Milijana, Petrović Lidija, Fraj Jadranka, Bučko Sandra, Katona Jaroslav, Spasojević Ljiljana, Interfacial properties of chitosan/sodium dodecyl sulfate complexes, Acta Periodica Technologica, 48 (2017) 221-229

Саопштења са међународног скупа штампана у изводу, М-34

1. **Milinković Jelena**, Petrović Lidija, Fraj Jadranka, Katona Jaroslav, Bučko Sandra, Spasojević Ljiljana, Complex coacervation in the system chitosan/sodium lauryl ether sulfate, 16th European Student Colloid Conference Florence, 19-22 June, Florence 2017, Conference Handbook, 63
2. **Milinković Jelena**, Petrović Lidija, Fraj Jadranka, Katona Jaroslav, Bučko Sandra, Spasojević Ljiljana, Influence of pH on surface activity chitosan/sodium lauryl ether sulfate system, V International Congress Engineering, Environment and Materials in Processing Industry, Jahorina, 15-17 Mart, 2017, Book of Abstract
3. Petrović L., **Milinković J.**, Fraj J., Katona J., Bučko S., Spasojević L.J., Emulsifying properties of Chitosan/Sodium lauryl ether sulfate system, 31th Conference of the European Colloid and Interface Society, Madrid (Spain), 3-8 September 2017., Poster P2-71.
4. **Milinković Jelena**, Petrović Lidija, Fraj Jadranka, Bučko Sandra, Katona Jaroslav, The possibility of obtaining an O/W emulsions in the system chitosan/sodium dodecyl sulfate, 18th DKMT Euroregional Conference on Environment and Health, Novi Sad, Srbija, 02-04 June, 2016, Book of Abstract, str. 76
5. **Milinković Jelena**, Petrović Lidija, Milanović Jadranka, Bučko Sandra, Katona Jaroslav, Complex coacervation in the system chitosan/sodium dodecyl sulfate, Smart and Green Interfaces Conference-2015-COST MP1106, Beograd, Srbija, March 30-01 April 2015, Book of Abstract, str. 68
6. **Milinković Jelena**, Petrović Lidija, Fraj Jadranka, Katona Jaroslav, Bučko Sandra, Spasojević Ljiljana,, Dimić Ivana, Formation of chitosan-sodium lauryl ether sulfate complexes and their deposition at the interface, 11 Conference on Colloid Chemistry, Eger, 28-30 Maj, 2018, Book of Abstract
7. **Milinković J.**, Đekić Lj, Petrović L, Fraj J, Ćirić A. Chitosan/sodium lauryl ether sulfate microcapsules as carriers for vitamin E: in vitro release study. 12th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology and Regulatory Affairs, Szeged, Hungary, 20-22 September 2018, Acta Pharmaceutica Hungarica-CESPT Edition-Posters, 2018; 3: 173-174 (P7/9)

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Испитивањем интеракција хитозана и натријум-додецил-сулфата (СДС) у воденим растворима показано је да механизам интеракције зависи од маснеог удела компонена у смеши. При врло ниским концентрацијама СДС започиње електростатичко везивање појединачних молекула СДС за активне центре полимерног ланца, при чему се формирају слабо растворни, позитивно наелектрисани комплекси изражене површинске активности. Даљи пораст концентрације СДС до маснеог односа хитозан:СДС 1:2, доводи до његовог везивања у облику агрегата сличних мицелама. Наелектрисање формираних комплекса се смањује, промене се дешавају у раствору, а не на граници фаза, услед чега се издваја коацерват чврсте еластичне конзистенције. При изразито високим концентрацијама СДС долази до промена на граници фаза, наиме адсорбовани молекули комплекса хитозан-СДС се десорбују, а молекули СДС заузимају њихово место. У раствору се формирају регуларне мицеле СДС, али се мањим делом наставља и његово везивање за молекуле комплекса. Комплекси постају негативно наелектрисани услед чега се благо редиспергују.

На основу испитивања интеракција хитозана и натријум-лаурилетар-сулфата (СЛЕС) закључено је да је при ниским концентрацијама СЛЕС, електростатичко везивање његових молекула слабо изражено. При маснеом односу хитозан:СЛЕС 14:1 интеракције у систему постају хидрофобне по својој природи, површински напон остаје непромењен, повећава се мутноћа смеше, док хитозан/СЛЕС комплекси имају укупно позитивно наелектрисање. Област хидрофобних интеракција је линеарно зависна од концентрације полимера, тако да се завршава при маснеом односу хитозан:СЛЕС 1:2 формирањем неутралних комплекса, који су потпуно преципитовани као коацерватна фаза. Издвојени коацерват је мање компактан и чврст, те се може редисперговати деловањем механичке силе. Даље повећање концентрације СЛЕС доводи до растварања коацервата услед вишка негативног наелектрисања и до значајног повећања вискозности смеше. Утврђено је да и мале варијације у структури анијонског сурфактанта (СДС и СЛЕС) могу довест до значајних разлика у механизму интеракције са катјонским полимером-хитозаном.

Резултати испитивања адсорпционих особина хитозана и комплекса хитозан/СДС и хитозан/СЛЕС на граници фаза уље/вода потврдили су слабу површинску активност хитозана и показали да повећање концентрације СДС односно СЛЕС у раствору хитозана доводи до карактеристичних промена на граници фаза. Нагли пад међуповршинског напона након маснеог односа 1:2 код оба комплекса указује на реорганизацију адсорпционог слоја. Овај феномен је мање изражен код смеше хитозан-СЛЕС, те су даља испитивања настављена са овом смешом. Такође, уочено је и да врста уља утиче на адсорпционе особине формираних комплекса. Ниже вредности међуповршинског напона су постигнуте у систему триглицериди средње дужине угљоводоничног ланца/вода него у ситему уље коштица грожђа/вода

Емулговањем уља у смеши хитозан-СЛЕС различитих масених односа добијене су емулзије различитих карактеристика. Посматрањем микрографија емулзија уочава се коацерват комплекса хитозан/СЛЕС око каплица уља, када је масени однос хитозан:СЛЕС 1:2, што овај систем чини погодним за добијање микрокапула. Емулзије уља коштица грожђа у води показале су лошије карактеристике (крупније капи, већу полидисперзност и лошију стабилност). Анализа величине и расподеле величине капи 20% триглицериди средње дужине угљоводоничног ланца/вода стабилованих смешом хитозан-СЛЕС масених односа 1:2 и 1:7, показала је да су средњи пречници капи и степен полидисперзности мањи код емулзије са већим уделом СЛЕС, тј. на граничној површини капи ових емулзија адсорбовани су само молекули СЛЕС, што је и потврђено мерењем зета потенцијала. Такође, визуелним праћењем промена у стубу емулзија након 30 дана стајања на собној температури, поред очекиваног раслојавања долази и до издвајања коацерватне фазе комплекса хитозан/СЛЕС, чиме се потврђује да је он присутан само у континуалној фази емулзија.

Сушењем 20% триглицериди средње дужине угљоводоничног ланца/вода емулзија у струји топлог ваздуха применом *spray drying* поступка могуће је издвојити микрокапуле уљног садржаја обogaћене витамином Е. Све формиране микрокапуле су стабилне, садржаја влаге од 0,97-1,76%, са добром способношћу редисперговања у води. Додатак умреживача формалдехида и глутаралдехида у мањој мери утиче на дисперзне карактеристике микрокапула. Анализом морфологије површине уочено је да је највећи удео микрокапула сферног облик, са благо набораном површином, као и да су једино микрокапуле умержене глутаралдехидом маснеог односа хитозан:глутаралдехид 1:1 појединачне, док је код осталих уочено присуство агломерата.

Високе вредности коефицијента корелације за примењене математичке моделе указује да је дизајниран систем са контролисаним ослобађањем активне материје. Ослобађање витамина Е из микрокапсула било је у складу са моделом *Korsmeyer-Peppas*-а, а вредности дифузионог експонента указивале су да се механизам ослобађања највероватније заснива на сложеном процесу који осим просте дифузије укључује и директно ослобађање активне супстанце са површине микрокапсула (спирање). Код микрокапсула умрежених глутаралдехидом, ослобађање је брзо и количина ослобођеног витамина Е је већа, тј. израженији је процес спирања. Закључено је да неумрежене микрокапсуле имају најбоље карактеристике. Стога, употреба токсичних умреживача није потребна.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Дисертација је добро структурирана, а резултати истраживања су добијени извођењем добро постављених експеримената, усклађених са дефинисаним циљевима докторске дисертације. Приликом анализе добијених резултата истраживања дата су одговарајућа образложења у складу са доступном научном литературом и критички осврт на њихово вредновање. Јасно написан текст је праћен одговарајућим сликама и табелама. На основу резултата истраживања изведени су адекватни закључци и предложени су правци даљих истраживања.

На основу наведеног, **Комисија позитивно оцењује приказ и тумачење 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. Докторска дисертација написана је у потпуности у сагласности са образложењем наведеним у пријави теме доктората.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе
Да. Докторска дисертација садржи све битне елементе.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

На основу спроведених анализа и урађених експерименталних испитивања докторска дисертација по свом садржају представља оригинални научни рад. Научни допринос дисертације огледа се, између осталог, у детаљном испитивању интеракција биополимера хитозана и јонских површински активних материја, натријум-додецил-сулфата и натријум-лаурилетар-сулфата, у воденој средини, као и у разјашњавању механизма формирања њихових комплекса различитих карактеристика. Посебну вредност и оригиналност дисертације даје њен апликативни аспект, који се односи на примену коацервата хитозан-јонска ПАМ за стабилизацију емулзија У/В. Оптимизацијом услова добијања, који обухватају подешавање рН средине, масеног односа хитозан:ПАМ који одговара формирању неутралног, површински активног коацерватног комплекса, врсте и удела уљне фазе, добијене су микрокапсуле са инкорпорираним витамином Е. Микрокапсуле су поступком сушења у струји топлог ваздуха издвојене у облику праха. Треба нагласити да је испитивање особина микрокапсула (морфологија површине, ефикасност микрокапсулације и кинетика ослобађања витамина Е) показало да није неопходно користити уобичајене, токсичне умреживаче (формалдеhid, глутералдеhid) ради постизања континуираног ослобађања.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања
Нема. Докторска дисертација нема недостатака.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију дипл. фарм. Јелене Милинковић Будинчић под називом „Примена система хитозан-јонска површински активна материја за добијање микрокапула уљног садржаја“ и предлаже да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Др Јарослав Катона, ванредни професор

Универзитет у Новом Саду Технолошки факултет
председник

Др Лидија Петровић, ванредни професор

Универзитет у Новом Саду Технолошки факултет
ментор

Др Јадранка Фрај, доцент

Универзитет у Новом Саду Технолошки факултет
члан

Др Љиљана Ђекић, ванредни професор

Универзитет у Београду Фармацеутски факултет
члан

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.