

ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

-обавезна садржина- свака рубрика мора бити попуњена

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

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовао комисију 16.06.2017. године, Наставно-научно веће Технолошког факултета Нови Сад, Универзитета у Новом Саду</p> <p>2. Састав комисије са знаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Др Синиша Марков, редовни професор, ужа научна област биотехнологија, изабран 15.10.2012, Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад, председник • Др Соња Ђилас, редовни професор, ужа научна област технолошко-инжењерске хемије, изабрана 27.07.1998, Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад, ментор • Др Весна Тумбас Шапоњац, доцент, ужа научна област технолошко-инжењерске хемије, изабрана 01.08.2012, Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад, члан • Др Драгана Четојевић-Симин, научни саветник, ужа научна област биотехничке науке – прехранбено инжењерство, изабрана 28.01.2016, Универзитет у Новом Саду, Медицински факултет, Институт за онкологију Војводине
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>Име, име једног родитеља, презиме: Милица, Небојша, Винчић (рођ. Крунић)</p> <p>Датум рођења, општина, држава: 12.04.1987. Сремска Митровица, Србија</p> <p>Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив: Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад, студијски програм Прехрамбено инжењерство, модул Контрола квалитета, мастер инжењер технологије</p> <p>Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија: 2012, Прехрамбено инжењерство, Универзитет у Новом Саду, Технолошки факултет Нови Сад</p> <p>Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: -</p>

Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: -

III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Антиоксидативна, антипролиферативна и антимикробна активност одабраних екстраката тропова бобичастог воћа

ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

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

Докторска дисертација мр Милице Винчић је прегледно и јасно изложена у шест поглавља:
Увод (стр. 1–2),

Општи део (стр. 3–51),

Експериментни део (стр. 52–76),

Резултати и дискусија (стр. 77–148),

Закључак (стр. 151–156),

Литература (стр. 157–179).

Дисертација је написана на 179 страна А4 формата. Садржи 72 слике и 28 табела. Цитирано је 250 литературних навода, а на почетку дисертације су дате кључне документацијске информације са кратким изводом на српском и енглеском језику.

ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У **Уводу** кандидаткиња указује да воће садржи поред нутритивних и значајну количину биоактивних једињења: фенолних киселина, стилбена, каротеноида, кумарина, халкона, лигнина, флавоноида и њихових гликозида. Даље се истиче да је биолошка активност ових једињења првенствено условљена њиховим антиоксидативним капацитетом, тј. способношћу уклањања реактивних кисеоничних врста – узрочника патолошких стања хуманог организма, те да конзумирање воћа, прехранбених производа обогаћених истим, као и одговарајућих дијететских производа, обезбеђује жељени антиоксидативни статус и помаже у превенцији развоја различитих хроничних болести, као што су кардиоваскуларне болести, и неки облици рака. Затим се указује да се у новије време напушта употреба синтетских антиоксиданата, због њихових токсичних ефеката, а тежиште интересовања пребацује на употребу природних антиоксиданата, који могу да утичу на спречавање развоја болести изазваних реактивним кисеоничним врстама. Даље се наводи да су бројне студије показале да је висока антиоксидативна активност бобичастог воћа повезана са високим садржајем полифенилних једињења и витамина, посебно витамина Ц, и да њихов садржај има позитиван ефекат на дегенеративне и хроничне болести. С обзиром на та сазнања, указује се да су се новија истраживања из области природних антиоксиданата проширила и на споредне производе који настају током прераде воћа, а представљају економски дефицит, еколошки проблем, али и значајан губитак биомасе и фитонутријената. Даље се наводи да се у Србији у индустрији сокова генеришу значајне количине споредних производа који се користе као храна за животиње, за производњу прехранбених влакана и биогорива, иако представљају значајан извор биоактивних антиоксиданата и бојених материја. Сагледавајући економску оправданост искоришћења ових споредних производа (тропова), као и њихов изузетан фитохемијски потенцијал, као главни циљеви рада наводе се добијање и карактеризација функционалних екстраката, коришћењем споредних производа индустријске прераде бобичастог воћа из фамилија Ericaceae и Rosaceae, малине, купине и боровнице, воћа по којем је Србија на светском тржишту препознатљива по производњи. У овом поглављу наведене су и фазе плана рада ове дисертације.

Поглавље **Општи део** састоји се из четири потпоглавља. У првом потпоглављу докторанткиња описује основне карактеристике и основни хемијски састав одабраног бобичастог воћа. У другом потпоглављу веома детаљно и студиозно обрађује досадашње литературне податке о фитохемикалијама и нутријентима бобичастог воћа. У трећем потпоглављу детаљно су обрађени литературни подаци о антиоксидативној, антихипергликемијској, антипролиферативној и антимикробној активности бобичастог воћа. У последњем, четвртном потпоглављу кандидаткиња наводи да током индустријске прераде воћа настају велике количине споредних производа који се углавном третирају као отпад, који поред економског дефицита представља и еколошки проблем. Затим документовано наводи да је доказано да ови споредни производи садрже велике количине фитохемикалија и представљају значајан извор природних антиоксиданата, прехранбених влакана, природних боја и других компоненти, које имају позитиван ефекат на човеково здравље. Такође наводи да се данас у свету ови споредни производи углавном користе као ђубриво, храна за

животиње, за добијање биогорива и прехранбених влакана, а да би проналажење идејног решења експлоатације и искоришћења овог отпада, са задовољавањем економског аспекта, умногоме решио значајне проблеме индустрије прераде воћа. Кандидаткиња веома студиозно обрађује досадашње литературне податке о фитохемијском саставу и биоактивности воћних тропова и указује да су могућности искоришћења овог тропа бројне. На основу проучене и систематизоване литературе, докторанткиња је била у могућности да правилно анализира и објасни добијене резултате и да их упоређи са резултатима других аутора који су радили на сличној проблематици.

У поглављу **Експериментални део** кандидаткиња наводи да је експериментални рад ове докторске дисертације урађен у лабораторијама за Органску хемију, Хемију хране и Микробиологију Технолошког факултета Ноби Сад, Унивезитета у Новом Саду, Лабораторији за ћелијске културе Института за онкологију Војводине у Сремској Каменици и Фитохемијској лабораторији Департамента за науку и технологију хране, СЕВАС-CSIC, Мурсија, Шпанија. Ово поглавље садржи списак коришћених хемикалија и инструмената, као и неопходне податке о биљном материјалу који је одабран за истраживања. Затим садржи детаљан опис поступка добијања екстраката тропова одабраног бобичастог воћа, као и метода и експерименталних процедура које су коришћене за карактеризацију добијених екстраката тропова. Описане су спектрофотометријске методе за одређивање садржаја укупних полифенола (TPh), флавоноида (TF) и антоцијана (TAc), као и HPLC анализа полифенолних једињења и витамина Ц. Затим су описане спектрофотометријске методе одређивања антиоксидативне активности екстраката на стабилне DPPH и ABTS⁺ радикале и метода одређивања укупне редукционе способности, као и ESR спектроскопске методе одређивања антиоксидативне активности екстраката на реактивне супероксид анјон и хидроксил радикале. Детаљно су описане и методе одређивања антихипергликемиске активности тестом инхибиције ензима α -глюкозидазе, антипролиферативне активности екстраката на раст четири хумане ћелијске линије: HeLa (епителни карцином цервикса), MCF7 (аденокарцином дојке), HT-29 (аденокарцином дебелог црева), и MRC-5 (фетални фибробласти плућа), као и антимикуробне активности екстраката тропова на одабране сојеве бактерија, квасаца и плесни (диск дифузиона метода и метода „бунарчића“). Затим се даје опис лабораторијске производње воћних сокова обogaћених екстрактима тропова бобичастог воћа и методе одређивања садржаја укупних полифенола, флавоноида и антоцијана и антиоксидативне активности необogaћених и обogaћених сокова DPPH тестом и тестом редукционе способности. У делу Статистичка обрада података дат је опис метода за статистичку обраду добијених резултата.

Резултати претходно описаних испитивања, као и њихова анализа, приказани су у поглављу **Резултати и дискусија**. Ово поглавље је подељено у осам потпоглавља и покрива две тематске целине: прва се односи на карактеризацију екстраката тропова малине сорти Meeker и Willamette (ETMM и ETMW), купине сорти Чачанска бестрна и Thornfree (ETKЃ и ETKT) и дивље боровнице (ETB), а друга обрађује њихову примену као функционалног додатка соковима од воћа. Резултати су веома прегледно приказани и адекватно дискутовани. Резултати су приказани у 17 табела и 43 слике, и образложени су на веома прегледан и методолошки разумљив начин. Најпре су дати резултати спектрофотометријског одређивања садржаја укупних фенола, флавоноида и антоцијана, а потом резултати квалитативне и квантитативне HPLC анализе полифенолних једињења и одређивања садржаја витамина Ц у ETMM, ETMW, ETKЃ, ETKT и ETB. Затим су приказани резултати одређивања антиоксидативне, антихипергликемијске, антипролиферативне и антимикуробне активности ETMM, ETMW, ETKЃ, ETKT и ETB, као и резултати корелационе анализе између садржаја TPh, TF, TAc, фенолних киселина (протокатехинске, галне, ферулне, синапинске и елагинске киселине), флавонола (рутина и мирицетина), цијанидин-3-глюкозида, односно витамина Ц и одговарајућих EC₅₀ вредности одређених за антиоксидативну, антихипергликемијску, антипролиферативну и антимикуробну активност испитиваних екстраката тропова. У оквиру друге целине дати су резултати одређивања садржаја TPh, TF и TAc и антиоксидативне активности испитиваних необogaћених и обogaћених сокова малине сорти Meeker и Willamette (SMM и OSMM, односно SMW и OSMW), купине сорти Чачанска бестрна и Thornfree (SKЃ и OSKЃ, односно SKT OSKT) и дивље боровнице (SB и OSB), као и корелационе анализе између садржаја TPh, TF и TAc и EC₅₀^{DPPH•}, односно RP₅₀ вредности сокова. Дискусија добијених резултата је изведена у складу са најновијим литературним наводима. У обављеној анализи кандидаткиња је испољила велико теоријско знање, вешто је користила бројне податке из цитиране литературе компарирајући их са резултатима сопствених истраживања, а уочене појаве успешно је објаснила у духу савремених истраживања из области биоактивности полифенолних једињења, да би на крају извела валидне

закључке.

У поглављу **Закључак**, закључци су веома добро изведени из добијених резултата и њихове дискусије, те се могу сматрати поузданим и одговарајућим у односу на постављене циљеве дисертације.

У последњем поглављу **Литература** ауторка наводи 250 референци, које су коришћене у писању ове дисертације и које су цитиране на умешан и правилан начин. Избор референци је актуелан (више од половине цитата су новијег датума) и примерен тематици која је проучавана.

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

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

Категорија М21 - Рад штампан у врхунском међународном часопису:

- Весна Тумбас-Шапоњац, Amadeo Girones-Vilaplana, Соња Ђилас, Pedro Mena, Гордана Ђетковић, Diego Moreno, Јасна Чанадановић-Брунет, Јелена Вулић, Слађана Стајчић, **Милица Крунић**, (2014), Anthocyanin profiles and biological properties of caneberry (*Rubus spp.*) press residues, Journal of the Science of Food and Agriculture, 94 (12), 2393-2400.
- Весна Тумбас-Шапоњац, Amadeo Girones-Vilaplana, Соња Ђилас, Pedro Mena, Гордана Ђетковић, Diego Moreno, Јасна Чанадановић-Брунет, Јелена Вулић, Слађана Стајчић, **Милица Винчић**, (2015), Chemical composition and potential bioactivity of strawberry pomace, RSC Advances, 5 (7), 5397-5405. (делимично проистекао из резултата истраживања у оквиру рада на докторској дисертацији)

Категорија М 34:

- Соња Ђилас, Јасна Чанадановић-Брунет, Гордана Ђетковић, Весна Тумбас, **Милица Крунић**, Слађана Стајчић, Јелена Вулић, Antioxidant activity of industrial blackberry pomace extract, Euro Food Chem XVII, 7-10. 5. 2013, Истанбул, Турска, pp. 263.
- **Милица Винчић**, Соња Ђилас, Јасна Чанадановић-Брунет, Гордана Ђетковић, Весна Тумбас Шапоњац, Слађана Стајчић, Јелена Вулић, Antioxidant activity of industrial raspberry pomace extract, Annual Conference and Exhibition Functional Foods, Nutraceuticals, Natural Health Production and Dietary Supplements, 14-17. 10. 2014, Истанбул, Турска, П 335.
- Весна Тумбас Шапоњац, Соња Ђилас, Јасна Чанадановић-Брунет, Гордана Ђетковић, Драгана Четојевић-Симин, **Милица Винчић**, Јелена Вулић, Слађана Стајчић, Biological activity of polyphenols recovered from bilberry pomace, Annual Conference and Exhibition Functional Foods, Nutraceuticals, Natural Health Production and Dietary Supplements, 14-17. 10. 2014, Истанбул, Турска, П 338.
- Соња Ђилас, **Милица Винчић**, Јасна Чанадановић-Брунет, Гордана Ђетковић, Весна Тумбас Шапоњац, Јелна Вулић, Слађана Стајчић, Драгана Четојевић-Симин, The influence of extraction on anthocyanin content and biological activity of Bilberry pomace, The 8th International Workshop on Anthocyanins, 16-18. 09. 2015, Montpellier, France, S5-P67.
- Соња Ђилас, Јасна Чанадановић-Брунет, Гордана Ђетковић, Весна Тумбас Шапоњац, **Милица Винчић**, Драгана Четојевић-Симин, Јелена Вулић, Antioxidant and antiproliferative activities of industrial bilberry pomace, Euro Food Chem XVIII, 13-16. 10. 2015, Madrid, Spain, EXP-P-256.

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

У раду су испитани хемијски састав, антиоксидативна, антихипергликемијска, антипролиферативна и антимикробна активност лиофилизованих метанолних екстраката тропа малине (*Rubus idaeus* L) сорти Meeker (ETMM) и Willamette (ETMW), купине (*Rubus fruticosus* L)

сорти Чачанска бестрна (ЕТКЃ) и Thornfree (ЕТКТ) и дивље боровнице (*Vaccinium myrtillus* L) (ЕТВ), као и могућност примене ових екстраката као функционалног додатка соковима од воћа.

Испитивања хемијског састава екстраката тропова обухватила су спектрофотометријско одређивање садржаја ТРh, ТF и ТAc и HPLC анализу фенолних једињења и витамина Ц.

Највиши садржај ТРh, ТF и ТAc одређен у ЕТВ (103,46 mg GAE/g сувог екстракта, 50,05 mg RE/g сувог екстракта, 44,63 mg CyGE/g сувог екстракта, редом). Најнижи садржај ТРh утврђен је у ЕТММ (26,30 mg GAE/g сувог екстракта), а ТF и ТAc у ЕТМW (22,00 mg RE/g сувог екстракта, 2,32 mg CyGE/ g сувог екстракта, редом).

HPLC анализом утврђено је да су у ЕТММ и ЕТМW доминантне компоненте протокатехинска (9,779 mg/g сувог екстракта, 12,779 mg/g сувог екстракта, редом) и гална киселина (4,534 mg/g сувог екстракта, 7,302 mg/g сувог екстракта, редом). Од антоцијана, цијанидин-3-софорозид је доминантан у оба екстракта тропа малине. У ЕТКЃ од фенолних киселина најзаступљеније су гална и ванилинска киселина (10,462 mg/g сувог екстракта, односно 9,555 mg/g сувог екстракта), док су у ЕТКТ доминантне протокатехинска и ванилинска киселина (27,929 mg/g сувог екстракта, 13,089 mg/g сувог екстракта, редом). У ЕТКЃ и ЕТКТ најзаступљенији антоцијан је цијанидин-3-глукозид (15,722 mg/g сувог екстракта, односно 15,486 mg/g сувог екстракта). Од флаванола у ЕТКЃ и ЕТКТ су заступљени катехин и епикатехин, као и катехин естерификован галном киселином. Од фенолних киселина у ЕТВ доминантне су протокатехинска (35,180 mg/g сувог екстракта) и гална киселина (31,981 mg/g сувог екстракта). ЕТВ се посебно истиче по високом садржају антоцијана, а петунидин-3-галактозид, цијанидин-3-арабинозид и петунидин-3-глукозид су доминантни (54,291 mg/g сувог екстракта, 52,589 mg/g сувог екстракта и 45,190 mg/g сувог екстракта, редом).

Садржај витамина Ц одређен је HPLC анализом. У ЕТКТ одређен је највиши (1,44 mg/g сувог екстракта), а у ЕТВ најнижи садржај витамина Ц (0,06 mg/g сувог екстракта).

Применом спектрофотометријских метода одређена је антиоксидативна активност екстраката тропова на релативно стабилне DPPH и ABTS⁺ радикале, као и њихова редукциона способност.

Највећу антиоксидативну активност на DPPH радикале показали су ЕТКТ ($EC_{50}^{DPPH\bullet}=0,0085$ mg/ml) и ЕТКЃ ($EC_{50}^{DPPH\bullet}=0,0175$ mg/ml). Антиоксидативна активност ових екстраката је боља у односу на синтетички антиоксидант тролокс ($EC_{50}^{DPPH\bullet}=0,0188$ mg/ml). ЕТВ ($EC_{50}^{DPPH\bullet}=0,0246$ mg/ml) је показао добру активност, сличну тролоксу, док су ЕТММ ($EC_{50}^{DPPH\bullet}=0,0723$ mg/ml) и ЕТМW ($EC_{50}^{DPPH\bullet}=0,0416$ mg/ml) показали умерену антиоксидативну активност.

Сви екстракти тропова су показали добру антиоксидативну активност на ABTS⁺ радикале, али нешто мању у односу на тролокс ($EC_{50}^{ABTS^{\bullet+}}=0,0019$ mg/ml). Антиоксидативна активност ЕТКТ, ЕТКЃ и ЕТВ ($EC_{50}^{ABTS^{\bullet+}}=0,0065$ mg/ml, $EC_{50}^{ABTS^{\bullet+}}=0,0070$ mg/ml, $EC_{50}^{ABTS^{\bullet+}}=0,0082$ mg/ml, редом) је релативно слична, и нешто израженија у односу на активност ЕТММ и ЕТМW ($EC_{50}^{ABTS^{\bullet+}}=0,0147$ mg/ml, $EC_{50}^{ABTS^{\bullet+}}=0,0183$ mg/ml, редом).

Испитивањем редукционе способности екстраката тропова утврђено је да ЕТКТ, ЕТКЃ и ЕТВ ($RP_{0,5}=0,2358$ mg/ml, $RP_{0,5}=0,3310$ mg/ml, $RP_{0,5}=0,3792$ mg/ml, редом) имају сличан потенцијал редукционе способности. Најнижу редукциону способност показао је ЕТММ ($RP_{0,5}=1,0556$ mg/ml). Редукциона способност свих екстраката је лошија у односу на тролокс ($RP_{0,5}=0,0716$ mg/ml).

Антиоксидативна активност екстраката тропова одабраног бобичастог воћа на реактивне супероксид ањон ($O_2^{\bullet-}$) и хидроксил ($\bullet OH$) радикале одређена је ESR спектроскопијом.

ЕТВ је показао најизраженију антиоксидативну активност на $O_2^{\bullet-}$ радикале ($EC_{50}^{O_2^{\bullet-}}=0,0569$ mg/ml). Најнижу активност показао је ЕТМW ($EC_{50}^{O_2^{\bullet-}}=0,4499$ mg/ml). Антиоксидативна активност тролокса на $O_2^{\bullet-}$ ($EC_{50}^{O_2^{\bullet-}}=0,8575$ mg/ml) је била знатно нижа од активности свих испитиваних екстраката.

ЕТКЃ и ЕТКТ су показали бољу антиоксидативну активност на $\bullet OH$ ($EC_{50}^{\bullet OH}=0,5642$ mg/ml, односно $EC_{50}^{\bullet OH}=0,6429$ mg/ml) од других екстраката тропова, али нешто мало лошију у односу на тролокс ($EC_{50}^{\bullet OH}=0,4240$ mg/ml). Антиоксидативна активност ЕТММ ($EC_{50}^{\bullet OH}=3,7288$ mg/ml) на $\bullet OH$ је била знатно нижа у односу на остале екстракте тропова.

Пирсоновим тестом корелације утврђена је корелација између садржаја фитохемикалија и $EC_{50}^{DPPH\bullet}$, $EC_{50}^{ABTS^{\bullet+}}$ и $RP_{0,5}$ вредности. Врло добра корелација одређена је између садржаја ТРh и антиоксидативне активности на DPPH[•] ($|r|=0,86$), као и између садржаја ТРh и ТF и антиоксидативне активности на ABTS^{•+} ($|r|=0,84$, $|r|=0,93$, редом). Врло добра корелација утврђена је и између редукционе способности екстраката тропова и садржаја ТРh, ТF и синапинске киселине ($|r|=0,92$,

$|r|=0,87$, $|r|=0,95$, redom).

Корелационом анализом (корелиране су $EC_{50}^{O_2^{\bullet-}}$ и $EC_{50}^{OH^{\bullet}}$ вредности и садржаји фитохемикалија) утврђена је врло добра корелација између антиоксидативне активности екстраката тропова на $O_2^{\bullet-}$ и садржаја TF и TAc ($|r|=0,52$, $|r|=0,73$). Забележена је и добра корелација са садржајем рутина, мирицетина и цијанидин-3-глукозида ($|r|=0,70$, $|r|=0,58$, односно $|r|=0,62$), као и са садржајем галне ($|r|=0,66$) и ферулне киселине ($|r|=0,77$). Добра корелација утврђена је између садржаја TPh, TF, синапинске ($|r|=0,69$) и елагинске киселине и антиоксидативне активности екстраката тропова на OH^{\bullet} ($|r|=0,75$, $|r|=0,57$, $|r|=0,69$, $|r|=0,72$, редом).

Антихипергликемијска активност екстраката тропова испитана је тестом инхибиције α -глукозидазе. Сви екстракти су исказали концентрацијску зависност инхибиторне активности на α -глукозидазу у испитиваном опсегу концентрација. На основу антихипергликемијске активности, изражене као EC_{50}^{AHgA} , утврђено је да су ETMM (0,20 mg/ml), ETKČ (0,10 mg/ml) и ETKT (0,08 mg/ml) показали значајно већу AHgA у односу на друге испитиване екстракте тропова (ETMW и ETB).

Корелационом анализом (корелиране су EC_{50}^{AHgA} вредности и садржаји фитохемикалија), установљена је добра корелација између антихипергликемијске активности екстраката и садржаја галне и ферулне киселине ($|r|=0,56$, односно $|r|=0,57$).

Антипролиферативна активност екстраката тропова испитана је *in vitro*, њиховим деловањем на раст четири хистолошки различите хумане ћелијске линије: HeLa (епителни карцином цервикса), MCF7 (аденокарцином дојке), HT-29 (аденокарцином дебелог црева) и MRC-5 (хумани фетални фибробласти плућа).

ETMM, ETMW, ETKČ и ETKT су показали изражену антипролиферативну активност на све 4 испитиване хумане ћелијске линије. Најбољу активност према HeLa и MCF7 хуманим ћелијским линијама је показао ETMW ($EC_{50}^{HeLa}= 57,27 \mu\text{g/ml}$ и $EC_{50}^{MCF7}= 34,85 \mu\text{g/ml}$), док је ETKČ показао далеко израженију активност на раст HT-29 и MRC-5 ћелијских линија ($EC_{50}^{HT-29}= 66,02 \mu\text{g/ml}$; $EC_{50}^{MRC-5}=71,70 \mu\text{g/ml}$). ETB је показао најслабије антипролиферативно дејство на раст свих ћелијских линија у односу на екстракте тропова малине и купине. Најбоља активност овог екстракта уочена према HeLa ћелијској линији ($EC_{50}^{HeLa}=242,93 \mu\text{g/ml}$).

Корелационом анализом између EC_{50} вредности за све испитане хумане ћелијске линије и садржаја фитохемикалија, установљена је врло добра корелација између садржаја TAc и антипролиферативне активности екстраката према HeLa, MCF7, HT-29 и MRC-5 ћелијским линијама ($|r|=0,99$, $|r|=0,98$, $|r|=0,95$, $|r|=0,95$, редом). Врло добра корелација је утврђена и са садржајем галне и ферулне киселине и рутина. Утврђена је и врло добра корелација између садржаја мирицетина и антипролиферативне активности екстраката тропова на раст HeLa и MCF7 ћелијских линија.

За испитивања антимикробне активности екстраката тропова на одабране сојеве бактерија, квасаца и плесни коришћене су диск дифузиона метода и метода „бунарчића”.

ETMM и ETMW деловали су инхибиторно на све тест микроорганизме, изузев на квасац *Candida albicans*. Оба екстракта су показала сличну антибактеријску активност. За већину бактерија (изузев дивљег изолата *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. и *Bacillus* sp.) већ са 15 μl јавиле су се чисте зоне око диска. Од G (-) бактерија највећу осетљивост на оба екстракта су показале врсте *Escherichia* и *Salmonella*, а од G (+) бактерија врсте рода *Staphylococcus*. Код G (+) бактерија уочена је већа отпорност дивљих изолата према овим екстрактима. MIC и MBC ETMM и ETMW кретале су се у опсегу 0,29–0,59 mg/ml, односно 0,39–0,78 mg/ml. MIC за квасце и плесни и MFC вредности екстраката биле су много веће у односу на исте параметре за бактерије. Од испитиваних квасаца и плесни најосетљивији је био квасац *Saccharomyces cerevisiae* 112. Од плесни, дивљи изолат *Penicillium aurantiogriseum* је био осетљивији на оба екстракта од дивљег изолата *Aspergillus niger*, при чему је већа осетљивост запажена на ETMM.

ETKČ и ETKT су показали добру антибактеријску активност на све испитиване бактерије, али нешто слабију у односу на антибактеријску активност ETMM и ETMW. Од G (-) бактерија највећу осетљивост су показали сојеви рода *Salmonella*, а од G (+) бактерија *Bacillus* врсте и *Listeria monocytogenes*. Ови екстракти нису показали инхибиторно дејство према еукариотским микроорганизмима. MIC и MBC/MFC вредности су указале да оба екстракта тропа купине инхибирају раст свих испитиваних микроорганизма, при чему је ETKČ показао нешто већи антибактеријски потенцијал. ETKČ најефикасније је деловао на *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и *Staphylococcus aureus* ATCC 11632 (MIC=0,39 mg/ml, MBC=0,78 mg/ml), док је ETKT био

најефикаснији према *Escherichia coli* ATCC 25922 (MIC=0,78 mg/ml, MBC=1,56 mg/ml), *Staphylococcus aureus* ATCC 11632 и изолату *Pseudomonas aeruginosa* (MIC=1,56 mg/ml, MBC=3,13 mg/ml). Оба екстракта показала су ниску антибактеријску активност према *Bacillus cereus* ATCC 10876 и *Bacillus* sp.

ЕТВ је показао инхибиторно дејство према *Escherichia coli*, квасцима *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* и плеснима *Aspergillus niger* и *Penicillium aurantiogriseum*. За бактерије *Salmonella typhimurium*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa* и *Bacillus cereus* зона инхибиције је детектована само методом „бунарџића” при запремини од 100 μ l. MIC и MBC ЕТВ су биле у опсегу 3,13–37,50 mg/ml, односно 6,25–>100 mg/ml. Сојеви рода *Bacillus* били су најотпорнији од свих испитиваних бактерија, а најосетљивији су били изолат *Staphylococcus saprophyticus* и референтни сој *Staphylococcus aureus*, за које је MBC екстракта износила 6,25 mg/ml.

Корелационом анализом установљен је велики утицај полифенолних једињења на антимикробну активност. За све испитиване G (+) бактерије и G (-) бактерије утврђене су врло добре и добре корелације са садржајем TPh и TF.

Обогаћени сокови одабраног бобичастог воћа произведени су у лабораторијским условима додатком лиофилизованих екстраката тропова воћа (50 mg TPh екстракта/100 ml обогаћеног сока) у 10% водени раствор сока који је добијен цеђењем истог воћа. Ефикасност обогаћивања утврђена је на основу садржаја TPh, TF и TAc и антиоксидативне активности сокова одређене DPPH тестом и тестом редукционе способности.

Садржај TPh, TF и TAc у обогаћеним соковима је био знатно већи у односу на сокове из којих су произведени. Највећи садржај TPh и TF је одређен у OSKT (93,66 mg GAE/100 ml сока, 43,02 mg RE/100ml сока, редом), док је најмањи садржај TPh одређен у OSB (56,92 mg GAE/100 ml сока), а TF у OSMM (33,58 mg RE/100ml сока). Најнижи садржај TAc је био у OSMM (7,16 mg CyGE/100 ml сока), а највиши у OSB (24,09 mg CyGE/100 ml сока).

Сви обогаћени сокови су показали знатно израженију антиоксидативну активност у односу на необогаћене сокове. Најјаче антиоксидативно деловање на DPPH радикале показао је OSB ($EC_{50}^{DPPH\bullet}=0,004$ ml сока/ml реакционе смеше), а најслабије OSMM ($EC_{50}^{DPPH\bullet}=0,008$ ml сока/ml реакционе смеше). Најјачу редукциону способност показао је OSKČ ($RP_{0,5}=0,039$ ml сока/ml реакционе смеше), а најслабију OSMM ($RP_{0,5}=0,127$ ml сока/ml реакционе смеше).

Корелационом анализом утврђена је врло добра корелација између садржаја TPh, односно TF и антиоксидативне активности на DPPH радикале ($|r|=0,85$, односно $|r|=0,86$), као и редукционе способности обогаћених сокова ($|r|=0,85$, односно $|r|=0,81$).

Сумарни резултати корелационе анализе показали су да су за антиоксидативну, антихипергликемијску, антипролиферативну и антимикробну активност испитиваних екстраката тропова у великој мери одговорна полифенолна једињења, али не може се искључити ни утицај неких других једињења, као ни синергизам између свих биоактивних једињења присутних у овим екстрактима.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

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

Кандидаткиња Милица Винчић, мастер инж. технологије, је успешно и у целости обавила истраживања која су била предвиђена планом датим у пријави ове дисертације. Добијени резултати су проистекли из оригинално постављених експеримената и у складу са дефинисаним циљевима. Резултати истраживања су приказани прегледно и на систематичан начин, у виду табела, графикана и слика. Тумачењем добијених резултата и њиховим повезивањем са резултатима других аутора, изведени су одговарајући закључци, који дају адекватне одговоре на постављене задатке ове докторске дисертације. Стога, Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачење резултата истраживања.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

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

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

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе
Дисертација садржи све елементе неопходне за разумевање обрађене тематике и добијених резултата. Написан је монографски преглед литературе, изведени су сви планирани експерименти, примењене су савремене аналитичке методе, резултати испитивања су продискутовани и дати су закључци урађене тезе.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци
Дисертација мастер инж. технологије Милице Винчић представља оригинални допринос науци, пружајући детаљан увид у могућности искоришћења тропова малине сорти Meeker и Willamette, купине сорти Чачанска бестрна и Thornfree и дивље боровнице, бобичастог воћа које се у великим количинама прерађује у сок, и по којем је Србија на светском тржишту препознатљива по производњи.

Оригиналан допринос науци дат је одређивањем хемијског профила и квалитативне и квантитативне карактеризације фитохемикалија екстраката тропова одабраног бобичастог воћа. Значајан допринос је дат и детаљном карактеризацијом биоактивности ових екстраката. Урађено је детаљно истраживање антиоксидативне, антихипергликемијске, антипролиферативне и антимикробне активности екстраката тропова. Дисертација представља оригинални допринос науци и зато што је детаљном корелационом анализом одређен утицај фитохемикалија на антиоксидативну и биолошку активност.

Лабораторијска производња сокова обогачених екстрактима тропова малине, купине и боровнице и одређивање њиховог антиоксидативног потенцијала додатно доприносе значају истраживања спроведених у оквиру ове дисертације.

Резултати ове дисертације указују на неке од могућности коришћења екстраката тропова испитиваног бобичастог воћа. Екстракти ових тропова, захваљујући високом садржају антиоксиданата фенолне структуре и доказаној доброј антиоксидативној активности, могли би се користити као функционални додаци у прехранбеној, козметичкој и фармацеутској индустрији. Захваљујући доказаној антиоксидативној, антипролиферативној и антихипергликемијској активности испитивани екстракти тропова би могли да се примењују као помоћна средства у превенцији оксидативног стреса и дегенеративних болести, укључујући и канцер и дијабетес II, или у комбинацији са одговарајућим лековима у лечењу ових болести. Због доказаног високог антимикробног потенцијала, могао би се испитати, у реалним условима, потенцијал добијених екстраката као замене за синтетичка антимикробна средства која се користе у производњи хране, или неким другим гранама индустрије (нпр. козметичке и фармацеутске индустрије), што би свакако имало и позитиван утицај на поверење потрошача у сигурност производа.

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

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

Полазећи од позитивне оцене докторске дисертације под називом „**Антиоксидативна, антипролиферативна и антимикробна активност одабраних екстраката тропова бобичастог воћа**“, мастер инж. технологије Милице Винчић, Комисија предлаже да се прихвати **ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ**, а кандидаткињи одобри одбрана дисертације.

НАВЕСТИ ИМЕ И ЗВАЊЕ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ
ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

председник комисије

др Синиша Марков, редовни професор,
Универзитет у Новом Саду,
Технолошки факултет Нови Сад

ментор, члан комисије

др Соња Ђилас, редовни професор,
Универзитет у Новом Саду,
Технолошки факултет Нови Сад

члан комисије

др Весна Тумбас Шапоњац, доцент,
Универзитет у Новом Саду,
Технолошки факултет Нови Сад

члан комисије

др Драгана Четојевић-Симин, научни саветник,
Универзитет у Новом Саду,
Медицински факултет Нови Сад,
Институт за онкологију Војводине