

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ  
ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

## ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b>
1. Датум и орган који је именовео комисију 13.03.2009. Наставно-научно веће Технолошког факултета Универзитета у Новом Саду.
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: Др Бисерка Вујичић, редовни професор, Технолошко инжењерство, Технологија производа од воћа и поврћа, 30.05.1988, Технолошки факултет Нови Сад Др Љубо Врачар, ванредни професор, Технолошко инжењерство, Технологија производа од воћа и поврћа, 01.07.2004, Технолошки факултет Нови Сад Др Зоран Зековић, редовни професор, Фармацеутске технологије, Хемија и технологија фармацеутских производа, Технологија лекова, 01.07.2004, Технолошки факултет Нови Сад Др Мидхат Јашић, ванредни професор, Прехрамбена технологија, Технологија воћа и поврћа, 22.09.2004, Технолошки факултет, Универзитет у Тузли
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b>
1. Име, име једног родитеља, презиме: Александра, Недељко, Тепић
2. Датум рођења, општина, Република: 17.10.1975., Зрењанин, Србија
3. Датум одбране, место и назив магистарске тезе 02.06.2005., Нови Сад, Промена боје зачинске мленене паприке и заштитино деловање антиоксиданаса
4. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука Инжењерство конзервисане хране
<b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>
Карактеристике олеоризина мленене зачинске паприке добијеног класичном и екстракцијом суперкритичним угљен-диоксидом
<b>IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>
Докторска дисертација магистра Александре Тепић је веома прегледно и јасно изложена у шест поглавља: 1. Увод (стр. 1-2) 2. Општи део (3-59) 3. Материјал и методе (60-70) 4. Резултати и дискусија (71-125) 5. Закључак (126-128) 6. Литература (129-138), са 145 литературних навода



Дисертација је написана на 138 страна А4 формата, са 63 слике и 40 табела. На почетку дисертације дата је кључна документација са кратким изводом на српском и енглеском језику.

## V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

### Увод

У **Уводу** аутор указује на значај производње и прераде зачинске паприке као веома распрострањене и важне привредне гране. Императив у производњи зачинске паприке је добијање производа одређеног географског порекла високог квалитета, са постојаним и високим садржајем бојених материја, добре одрживости. Паприка се може користити у технолошкој или физиолошкој зрелости, у свежем или прерађеном стању, док се зачинска паприка користи за производњу млевене зачинске паприке и олеоризина.

Поред употребе у свежем (сировом) стању, велики број (преко 1000) фармацеутских, козметичких и прехранбених (млевена зачинска паприка, маринирана и биоферментисана паприка, национални специјалитети (ајвар, ђувеч), готова јела, производи од меса – кобасице, "salad dressings", млечни производи – сиреви, кондиторски, пекарски и снек производи, тестенине, умаци) производа садрже неке од конституената паприке.

Зачини (нарочито сушени) као компоненте које се додају прехранбеним производима су веома често микробиолошки контаминирани. Стога, прехранбена индустрија годинама примењује и екстракте зачина. Олеоризини су течни екстракти зачина, који садрже есенцијална уља и друге неиспарљиве компоненте. Предности олеоризина су: доследност ароме, стерилност, стабилност при складиштењу, смањени простор за складиштење и економичност.

У традиционалним прерадама, сушена и млевена паприка се екстрахује органским растварачима са ниском тачком кључања. Растварач се након екстракције мора пажљиво уклонити под вакуумом. Ови поступци имају неколико недостатака. Већина органских растварача су токсични и прописи ограничавају њихове резидуе у олеоризинима на врло мале концентрације. Током уклањања остатака растварача под вакуумом, термолабилна једињења се могу разградити или изгубити (део арома). Екстракцијом суперкритичним флуидима процес се одвија на нижим температурама при чему се избегава разградња термосензибилних ароматских и бојених компонената. Угљен-диоксид је идеалан растварач за екстракцију природних производа пошто је нетоксичан, неексплозиван, лако доступан и лако се уклања из екстрахованог производа.

Циљ истраживања је испитивање утицаја различитих видова екстракције (конвенционална екстракција органским растварачем и суперкритична екстракција угљен-диоксидом) на квалитет олеоризина зачинске паприке у погледу квалитативног и квантитативног садржаја бојених материја, маснокиселинског састава и антиоксидативних својстава. Резултати ових испитивања дају увид у кинетику различитих типова екстракције и информације о условима потребним за добијање квалитетног производа. На основу изнесеног може се констатовати да је циљ истраживања јасно и концизно дефинисан и да не одступа од формулација датих у пријави докторске дисертације.

### Општи део

Поглавље Општи део састоји се од седам делова који обухватају преглед литературе о пореклу и распрострањености паприке, њеног технолошког и нутритивног значаја. Дат је веома студиозан приказ хемијског састава и нутритивне вредности (угљених хидрата - шећера, полисахарида и сирових влакана; витамина А, Ц, токоферола, капсаицина и осталих нутритивних битних компонената. Приказан је садржај масних киселина и токоферола у уљу семена и осушеном плоду паприке као битних компоненти квалитета.

У поглављу Технолошки поступак производње млевене зачинске паприке кандидат је изнео савремена начела прераде, са детаљним приказом критичних тачака и фактора квалитета који утичу на квалитет производа (сушаре, млинови и др.).

Поглавље Технолошки поступак производње олеоризина даје детаљан приказ принципа и механизма класичне екстракције органским растварачем и екстракције суперкритичним флуидом, са наглашеним предностима и недостацима, уз појашњење утицаја услова екстракције на квалитет готовог производа.

С обзиром да на квалитет млевене зачинске паприке највећим делом утичу бојене материје (каротеноиди), аутор је дао детаљан приказ њихове структуре и номенклатуре, распрострањености у природи, улогу и значај у организму (провитаминска активност, антиоксидативна својства, улога у превенцији болести), као и физичко-хемијске особине (растворљивост, апсорпција светлости, UV/VIS карактеристике). У складу са циљем дисертације, размотрен је литературни преглед каротеноидног састава, као и промена каротеноида током сазревања паприке (синтеза, естерификација масним киселинама).

Надаље, истиче се значај слободних радикала и антиоксиданата, а посебно токоферола и каротеноида, као технолошки најзначајнијих једињења са антиоксидативним својствима. Размотрен је



механизам антиоксидативних реакција каротеноида и токоферола.

Поред основних норми квалитета зачинске паприке и олеоризина, у Општем делу дат је литературни преглед одређивања екстраховане боје, метода квалитативне и квантитативне анализе бојених материја (TLC, HPLC), маснокиселинског састава (GC-MS) и антиоксидативних својстава (ESR, "spin trapping", која се најчешће примењује за одређивање реактивних радикала).

На основу проучене и систематизоване литературе, докторант је био у могућности да правилно анализира и објасни добијене резултате и да их упореди са резултатима других аутора који су радили на сличној проблематици.

#### **Материјал и методе**

У поглављу Материјал и методе рада кандидат детаљно приказује технолошки поступак производње мленене зачинске паприке у фабрици "Алева", Нови Кнежевац, као полазне сировине за производњу олеоризина. Описан је начин одређивања средњег пречника честица, услови екстракције органским растварачем и суперкритичним угљен-диоксидом, услови одређивања маснокиселинског састава гасном хроматографијом, одређивање екстраховане боје методом ASTA 20, услови анализе каротеноида и токоферола високопритисном течном хроматографијом, услови мерења антиоксидативних својстава. За наведена испитивања коришћене су најсавременије методе (суперкритична екстракција, GC-MS, HPLC, ESR) и стандардна метода за одређивање екстраховане боје код паприке и олеоризина, прописана од стране Америчке асоцијације за зачине (American Spice Trade Association).

За моделовање и обраду експерименталних резултата коришћени су адекватни програми.

#### **Резултати и дискусија**

Резултати испитивања представљени су у поглављу РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА на 29 табела и 30 слика и образложени су на прегледан и методолошки разумљив начин.

У првом делу овог поглавља је направљено поређење приноса олеоризина мленене зачинске паприке добијених класичном екстракцијом помоћу хексана и суперкритичном екстракцијом помоћу угљен-диоксида. Класичном екстракцијом постигнут је већи принос екстракта, услед слабије селективности органског растварача. У току суперкритичне екстракције на константној температури и четири радна притиска праћена је кинетика екстракције (степен исцрпљености материјала, коефицијент брзе екстракције). На основу вредности коефицијената брзе екстракције утврђено је да је доминантни фактор екстракције при нижим притисцима молекулска дифузија, а на вишим конвективни пренос масе. За моделовање екстракционог система мленена зачинска паприка - суперкритични угљен-диоксид примењене су три модел једначине (основна једначина Reverchon и Sesti Osseo-a, 1994 и две модификоване једначине). Утврђено је да се за моделовање система на притисцима нижим од 200 bar могу применити сва три модела, док на притисцима вишим од 200 bar експерименталне резултате најбоље фитује модификована једначина (полином другог реда).

Анализом масних киселина утврђено је да између олеоризина добијеног екстракцијом помоћу хексана и суперкритичног угљен-диоксида нема статистички значајне разлике. Због специфичног састава масних киселина (велики удео есенцијалне линолне киселине, пореклом из семена), олеоризини паприке са нутритивног аспекта имају изузетан значај. Олеоризини добијени екстракцијом суперкритичним флуидима имају предност над класичним услед нижих температура екстракције и одсуства резидуа органских растварача.

Екстрахована боја (ASTA вредност), као мерило садржаја укупних пигмената, дефинише "комерцијални аспект" мленене зачинске паприке и олеоризина. Резултатима је доказано да је највећа ASTA вредност измерена у узорку добијеном класичном екстракцијом хексаном, што је последица различитог афинитета бојених материја паприке према примењеним растварачима.

Детаљнији увид у профил бојених материја (каротеноида паприке) добијен је применом високопритисне течне хроматографије. Идентификовано је више пикова слободних каротеноида, као и моно- и диестара- каротеноида са масним киселинама. Резултати квалитативне и квантитативне анализе каротеноида показали су да постоји сагласност између садржаја укупних каротеноида и ASTA вредности. Мленена зачинска паприка након екстракције суперкритичним угљен-диоксидом подрвгнута је накнадној екстракцији хексаном, како би се утврдио садржај преосталих каротеноида које суперкритични угљен-диоксид није могао у потпуности да екстрахује.

Из добијених резултата може се закључити да је суперкритични угљен-диоксид екстраховао углавном неполарна једињења (моно- и диестре каротеноида), док је у остатку мленене зачинске паприке након суперкритичне екстракције остао највећи део слободних (неестерификованих) пигмената. Суперкритичним флуидом екстрахован је већи део  $\beta$ -каротена.

Поред каротеноида, липосолубилни  $\alpha$ -токоферол знатно утиче на антиоксидативну активност олеоризина паприке. Резултати су показали да се највећи принос токоферола добија екстракцијом на нижим притисцима (више него органским растварачем).

ESR спектрална анализа олеоризина добијених класичном и суперкритичном екстракцијом доказала



је да олеоризини млевене зачинске паприке показују антиоксидативно деловање. Корелирањем  $EC_{50}$  вредности (концентрација узорка која редукује 50% присутних радикала) сваког узорка са садржајем  $\alpha$ -токоферола и укупних каротеноида може се закључити да антиоксидативној активности олеоризина највише доприносе каротеноиди, а на основу резултата и литературних података, може се претпоставити да  $\alpha$ -токоферол и каротеноиди имају синергистичко деловање.

У обављеној анализи кандидат је испољио изразито теоретско знање, вешто користећи бројне податке из цитиране литературе, које је успешно применио при тумачењу резултата сопствених истраживања.

## VI ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Циљ истраживања у овом раду било је испитивање утицаја различитих видова екстракције (конвенционална екстракција органским растварачем и суперкритична екстракција угљен-диоксидом) на квалитет олеоризина зачинске паприке у погледу квалитативног и квантитативног садржаја бојених материја, састава масних киселина, садржаја  $\alpha$ -токоферола и антиоксидативних својстава.

На основу добијених резултата, мр Александра Тепић је извела следеће закључке:

Применом суперкритичног угљен-диоксида у производњи олеоризина могу се добити производи без резидуа органских растварача, различитих квалитативних и квантитативних карактеристика, зависно од примењених услова екстракције.

Екстракцијом по Soxhlet-у помоћу хексана постигнут је принос од 11,85% олеоризина паприке.

Екстракцијом суперкритичним угљен-диоксидом на притисцима од 150, 200, 300 и 400 бара постигнути су приноси екстракта од 6,71%, 10,58%, 10,56% и 10,33%.

Применом три модел једначине за моделовање екстракционог система млевена зачинска паприка - суперкритични угљен-диоксид, закључено је да једначина  $Y_{II} = 100 [1 - \exp(-A + B_1 t + B_2 t^2)]$  најбоље фитује експерименталне податке.

Класичном екстракцијом помоћу хексана добијен је олеоризин са највећим садржајем екстраховане боје (886,02 ASTA). Олеоризини добијени суперкритичном екстракцијом имали су 15,06 – 47,09% боје у поређењу са олеоризином добијеним класичним поступком, што је индикатор мање селективности органског растварача у односу на суперкритични флуид.

Суперкритични угљен-диоксид је показао лошију растворну моћ према неестерификованим облицима каротеноида, тј. већи афинитет према естрима каротеноида са масним киселинама.

У свим олеоризинима је утврђено присуство девет масних киселина, 5 засићених и 4 незасићене. Највећи удео масних киселина чинила је полинезасићена линолна киселина (18:2), 75,2 – 78,26%. Преко 87% масних киселина свих добијених олеоризина чине C18 масне киселине. Однос незасићених и засићених масних киселина у свим олеоризинима износио је 6,62 – 7,59.

Иако су незасићене масне киселине подложније аутооксидацији, велики удео есенцијалне линолне киселине указује на изузетан нутритивни значај олеоризина паприке. Пошто су олеоризини, поред линолне, богати олеинском и линоленском киселином, могу се применити и као јестива и салатна уља или за производњу маргарина.

Применом Студентовог t-теста упоредних вредности, уз вероватноћу од 95%, утврђено је да у саставу масних киселина олеоризина добијених класичном и суперкритичном екстракцијом нема статистички значајне разлике.

У олеоризину паприке добијеном класичном екстракцијом од неестерификованих пигмената идентификовани су капсантин, *cis*-капсантин, капсорубин, виолаксантин, зеаксантин, антраксантин и  $\beta$ -криптоксантин. Капсантин је идентификован у суперкритичним екстрактима добијеним екстракцијом на 300 и 400 бар. Антраксантин је био заступљен само у екстракту добијеном на 400 бар, док је  $\beta$ -криптоксантин је идентификован у свим суперкритичним олеоризинима.

Највећи садржај пигмената имао је олеоризин добијен класичном екстракцијом, 31.475,2 mg/kg. Доминантни пигмент у екстракту био је капсантин (74,42%).

У поређењу са олеоризином добијеним класичним поступком, суперкритични олеоризини имали су 2,23 – 6,95 пута мање укупних пигмената.

Садржај укупних каротеноида у сагласности је са ASTA вредностима узорака.

Повећањем притиска екстракције суперкритичним флуидом повећава се принос пигмената у олеоризину, тј. повећањем густине флуида повећава се и његова растворна моћ.

Доминантни црвени пигмент у свим олеоризинима је капсантин, 93,55 – 96,15%.



Екстракцијом остатака након суперкритичне екстракције помоћу хексана, услед исцрпљивања уља из узорка екстракцијом, добијају се узорци са високим садржајем бојених материја, али је принос екстракције релативно мали.

Суперкритичном екстракцијом на нижим притисцима добија се већи принос токоферола, јер је његова растворљивост већа у угљен-диоксиду мање густине.

Олеоризини зачинске паприке добијени класичном и суперкритичном екстракцијом показали су инхибиторни ефекат на стварање пероксил радикала или учествују у њиховој трансформацији у стабилне производе.

На основу коефицијента корелације између садржаја укупних каротеноида и  $EC_{50}$  вредности и садржаја токоферола и  $EC_{50}$  вредности може се закључити да детектованој антиоксидативној активности олеоризина, истина малој, највише доприносе каротеноиди.

Услови суперкритичне екстракције могли би се подесити тако да се при нижим притисцима добије олеоризин са мање бојених материја и већим садржајем уља, а затим накнадном екстракцијом (органичним растварачем или суперкритичним флуидом, при већим притисцима) узорак са врло мало уљне компоненте и великом концентрацијом бојених материја.

Списак научних радова који су објављени или прихваћени за објављивање на основу истраживања у оквиру рада на докторској дисертацији:

**М-21 - Рад у врхунском међународном часопису**

A. Tepić, Z. Zeković, S. Kravić and A. Mandić: Pigment content and fatty acid composition of paprika oleoresins obtained by conventional and supercritical carbon-dioxide extraction. *CyTA – Journal of Food*, 2009 (u štampi) (потврда у прилогу)

**М-51 - Рад у водећем часопису националног значаја**

Aleksandra Tepić, Biserka Vujičić: Colour change in pepper (*Capsicum annuum*) during storage, *Acta Periodica Technologica*, 35 (2004) 59-64

Ljubo O. Vračar, Aleksandra N. Tepić, Biserka L. Vujičić, Srđan Šolaja: Influence of the heat treatment on the colour of ground pepper (*Capsicum annuum*); *Acta Periodica Technologica*, 38 (2007) 53-58

**М-34 - Саопштење са међународног скупа штампано у изводу**

Tepić N. Aleksandra: Characteristics of ground pepper oleoresin, obtained by classic and supercritical fluid extraction with carbon-dioxide. Third European Workshop on Food Engineering and Technology. Presentations of selected national PhD students in Food Engineering and Technology of 2008/2009 at European level, May 21-22, 2009, Naples - Portici Royal Palace, Italy. pp. 21-22

**М-64 - Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу**

Biserka Vujičić, Aleksandra Tepić: Ekstrakcija mlevene začinske paprike superkritičnim ugljen-dioksidom; Drugi naučno-stručni skup "InterRegioSci 2007", Novi Sad, maj 2007, 56-57

Biserka Vujičić, Ljubo Vračar, Aleksandra Tepić, Marija Jokanović, Zoran Zeković, Sonja Đilas, Vesna Tumbas, Gordana Četković, Jasna Čanadanović-Brunet, Gordana Dimić: Karakteristike oleorizina mlevene začinske paprike dobijenog klasičnom i ekstrakcijom superkritičnim ugljen-dioksidom. Treći naučno-stručni skup "InterRegioSci 2008", Novi Sad, 44-45

Рад је део резултата рада на пројекту који је финансирао Покрајински секретаријат за науку и технолошки развој покрајине Војводине, под називом "Карактеристике олеоризина млевене зачинске паприке добијеног класичном и екстракцијом суперкритичним угљен-диоксидом", бр. 114-451-01458 (2006-2008).

<b>VII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА</b>	
Кандидат мр Александра Тепић је успешно у целости обавила истраживања која су била предвиђена планом пријаве ове докторске дисертације. Добијени резултати су систематично, јасно и прегледно приказани и интерпретирани. Тумачење резултата заснива се на најновијим доступним научним сазнањима из области метода и кинетике екстракције и савремених инструменталних метода анализе бојених материја, антиоксидативних својстава и масних киселина.	
Начин приказа и тумачења резултата истраживања оцењују се позитивно.	
<b>VIII КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>	
1.	Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме Докторска дисертација написана је у складу са образложењем наведеним у пријави теме.
2.	Да ли дисертација садржи све битне елементе Докторска дисертација садржи све елементе значајне за овакав рад.
3.	По чему је дисертација оригиналан допринос науци Оригиналан допринос ове докторске дисертације огледа се у свеобухватности истраживања у домену испитивања утицаја конвенционалне екстракције органским растварачем и суперкритичне екстракције угљен-диоксидом на квалитет олеоризина зачинске паприке, пре свега профил каротеноида, с обзиром да су доминантни црвени пигменти (капсантин и капсорубин) ексклузивни за род <i>Capsicum</i> . Резултати испитивања квалитативног и квантитативног садржаја бојених материја, састава масних киселина и антиоксидативних својстава такође су од велике научне и практичне користи, с обзиром да је за испитивања коришћена домаћа сорта зачинске паприке, која се широко гаји и прерађује у нашој прехранбеној индустрији. Резултати испитивања кинетике екстракције система млевена зачинска паприка - суперкритични угљен-диоксид применом модел једначина дају ближи увид у механизме преноса масе при различитим радним условима.
4.	Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања Недостаци дисертације нису уочени.
<b>IX ПРЕДЛОГ:</b>	
На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:	
Полазећи од позитивне оцене докторске дисертације мр Александре Тепић, дипл. инж., Комисија са задовољством предлаже да се прихвати, а кандидату одобри одбрана овог рада.	

## ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Технолошки факултет, универзитет у Тузли, БиХ

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.