

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ  
ТЕХНОЛОШКО-МЕТАЛУРШКОГ ФАКУЛТЕТА  
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

На седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду, одржаној 25.06.2014., именовали смо за чланове за оцену научне заснованости теме докторске дисертације, коју је под називом „**АНТИОКСИДАТИВНА АКТИВНОСТ ЕКСТРАКТА КАФЕ И ОТПАДНЕ КАФЕ И ЊИХОВ УТИЦАЈ НА АКТИВАЦИЈУ ТРОМБОЦИТА**“, предложила Марија Ранић, дипл. инж. технологије.

На основу прегледа документације коју је доставио кандидат, Комисија подноси Наставно-научном већу следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

**1. ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ**

**1.1. Биографски подаци**

Марија Ранић рођена је у Свилајнцу, Република Србија 12.04.1968. Дипломирала је 1994. године на Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду на смеру Органска хемијска технологија – група: технологија полимерних материјала, са темом „Изоловање и идентификација алифатичних и полицикличних угљоводоника из димљене златиборске сланине” под менторством проф. др Милана Бастића и стекла стручно звање Дипломирани инжењер технологије.

По дипломирању, Марија Ранић је у току школске 1994.-1995. године била запослена на Технолошко-металуршком факултету у Београду, финансирана од стране Министарства за науку као таленат за научно-истраживачки рад. Од јула 1996. године је запослена у Институту за медицинска истраживања у Лабораторији за исхрану и метаболизам као истраживач приправник. У међувремену је стекла истраживачко звање истраживач сарадник у Центру изузетне вредности у области истраживања исхране и метаболизма, Института за медицинска истраживања.

Школске 2002.- 2003. године уписала је последипломске студије на Хемијском факултету Универзитета у Београду на смеру Биохемија, а 2009. године је прешла на докторске студије на Технолошко-металуршком факултету, студијски програм Биохемијско инжењерство и биотехнологија.

Положени испити и остварени бодови у оквиру докторских студија:

| Предмет                                         | Оцена | ЕСПБ |
|-------------------------------------------------|-------|------|
| 1. Структурна анализа органских молекула        | 10    | 6    |
| 2. Завршни испит                                | 10    | 30   |
| 3. Санитарна микробиологија                     | 10    | 4    |
| 4. Математичка обрада експерименталних података | 7     | 5    |
| 5. Одабрана поглавља биохемије - витамини       | 10    | 5    |
| 6. Хемијска кинетика                            | 10    | 5    |
| 7. Инжењерство ћелије                           | 10    | 5    |
| 8. Одабрана поглавља инструменталне анализе     | 10    | 7    |
| 9. Физичка органска хемија                      | 10    | 5    |
| 10. Сепарационе методе у технолошкој контроли   | 10    | 5    |
| 11. Хемијски сензори                            | 10    | 5    |
| 12. Енглески језик                              | 10    |      |

**Просечна оцена 9.73      Збир ЕСПБ поена 82**

Завршни испит са детаљним образложењем теме и предлогом експерименталног рада, кандидат Марија Ранић је одбранила 30.10.2012. са оценом десет (10), пред комисијом у саставу Др Сузана Димитријевић Бранковић, Др Славица Шилер Маринковић и Др Душан Антоновић.

У оквиру усавршавања и стицања нових знања у области истраживања којим се бави, Марија Ранић је прошла следеће обуке и тренинге у земљи и иностранству (избор):

- 2013 MAITRE seminar: Communicating Food Science in Belgrade, 10 -11 December, Belgrade, Serbia
- 2013 Workshop on Developing Knowledge-Sharing Partnerships in Europe and Central Asia, 4-6 December, in Budapest and Godollo, Hungary
- 2013 Food & Health Entrepreneurship Program (FHEP) one-week course open for international academic researchers and engineers working in the field of food science and nutrition to move ahead their research to the market, Barcelona, May 27-31, 2013
- 2012 Traditional Food International (TFI-2012); The Street Food Seminar, Cesena, Italy, October 4-5
- 2011 FAO Regional policy consultation on high food prices in Europe and Central Asia Region. Istanbul, Turkey, 20-22 June
- 2009 EuroFIR Workshop: EuroFIR E-learning Demo, 10 September, Vienna, Austria
- 2009 FOCUS-BALKANS (Food Consumer Science in the Balkans, FP7) Training module about Food Consumer Science (Frameworks, Protocols and Networks for a better Knowledge of Food Behaviour), 22nd and 23rd of June in Ohrid, Macedonia
- 2009 EURRECA SoE/IA2 Media Training: Nutrition Software, 11 June, Barcelona, Spain
- 2009 EURRECA RA2 Workshop: Data extraction for narrative reviews and meta-analysis, 10 June, Barcelona, Spain

- 2009 Using of Gray literature in research, training with prof. Primoz Juznic, University of Ljubljana, Faculty of Arts, Department of Library and Information Science and Book Studies, 7-8 May, Ljubljana, Slovenia
- 2009 Training on structure, function and data entry systems of EuroFIR BASIS (FP6). Evaluation and inputting of compositional data on flavanones in plant foods, Februar-March 2009, Institute for Food Research, Norwich, UK

## **1.2. Сечено научноистраживачко искуство**

У току досадашњег научноистраживачког рада, од уписа на докторске студије, Марија Ранић је била ангажована на више пројеката које финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја РС:

1. ФОЛОМЕГА - Биолошки механизми, нутритивни унос и статус полинезасићених киселина и фолата: Унапређење исхране у Србији. (Број: ИИИ 41030), Институт за медицинска истраживања у Београду, Центар изузетних вредности у области истраживања исхране и метаболизма (јануар 2011.- децембар 2014.);
2. ТР31035 Примена биотехнолошких метода у одрживом искоришћењу нус-производа агроиндустрије; Технолошко-металуршки факултет, Универзитета у Београду, (јануар 2011.-децембар 2015);
3. МНТРС 145071. Развој нових терапијских поступака у превенцији и лечењу болести јетре -улога и механизам деловања полинезасићених масних киселина; Институт за медицинска истраживања у Београду, Лабораторија за исхрану и метаболизам, (јануар 2006.-децембар 2010.).

Такође, Марија Ранић је била ангажована на више пројеката из FP7 и FP6 програма Европске комисије:

1. BACCHUS FP7 – Cardiovascular benefits from food Bioactives: four-year FP7-KBBE-funded Collaborative (Research) Project; (Повољни ефекти дијетарних биоактивних пептида и полифенола на кардиоваскуларно здравље код људи), 2012.-2016.
2. EFSA (European Food Safety Authority) – Dietary monitoring tools for risk assessment; (Алатке за праћење процене дијетарног уноса), 2012.-2013.
3. EuroFIR NEXUS FP7 – The EuroFIR Food Platform: Further integration, refinement and exploitation for its long-term self-sustainability (2011-2013) (EuroFIR платформа хране: Даља интеграција, унапређење и искоришћавање и дугорочна само-одрживост), 2011.-2013.
4. CHANCE FP7 – Low cost technologies and traditional ingredients for the production of affordable, nutritionally correct foods improving health in population groups at risk of poverty; (Јефтине технологије и традиционални састојци за производњу приуштиве, хране коректне са становишта нутритивне вредности у смислу унапређења здравља, код сиромашних популационих група), 2011.-2013.

5. BaSeFOOD FP7- Sustainable exploitation of bioactive components from the Black Sea Area traditional foods; (Самоодржива експлоатација биоактивних састојака традиционалне хране региона Црног мора), 2009.- 2011.
6. EuroFIR FP6 – European Food Information Resource Network, working as a fully trained compositional evaluator for eBASIS database on the content of BioActive Compounds in plant based foods; од 2009.
7. Eurreca FP6- EUropean micronutrient REcommendations Aligned, RA 2.7 Low Income and Immigrants; Spreading of Excellence; (Усаглашавање европских препорука за унос микронутријената), 2007.-2011.

### **Списак објављених научних радова (2009. – 2014.)**

#### **Рад у врхунском међународном часопису (M21)**

1. Ranic M., Nikolic M., Pavlovic M., Buntic A., Siler-Marinkovic S., Dimitrijevic-Brankovic S.: *Optimization of microwave-assisted extraction of natural antioxidants from spent espresso coffee grounds by response surface methodology*, - Journal of Cleaner Production, Vol 80, 2014, pp 69-79. IF= 3.590 (2013), ISSN 0959-6526
2. Gurinovic M., Novakovic R., Satalic Z., Nikolic M., Milesevic J., Ranic M., Glibetic M.: *Professional training in nutrition in Central and Eastern Europe: current status and opportunities for capacity development*, - Public Health Nutrition, 2014, pp. 1- 6 .doi:10.1017/S1368980014000172, IF= 2.483 (2013), ISSN 1368-9800
3. Gurinovic M., Witthoft CM., Tepsic J., Ranic M., Hulshof P.J.M., Hollman P.C., J Porubska J., Gohar A., Debeljak-Martacic J., Petrovic-Oggiano G., Novakovic R., Glibetic M., Oshaug A.: *Capacity development in food composition database management and nutritional research and education in Central and Eastern European, Middle Eastern and North African countries*, - European Journal of Clinical Nutrition, Vol 64, 2010, S134–S138. IF= 3.072 (2011), ISSN 0954-3007
4. Vucic V., Glibetic M., Novakovic R., Ngo J., Ristic-Medic D., Tepsic J., Ranic M., Serra-Majem L., Gurinovic M.: *Dietary assessment methods used for low-income populations in food consumption surveys: a literature review*, - British Journal of Nutrition, Vol 101, No 2, 2009, S95-S101. IF= 3.446 (2009), ISSN 0007-1145

#### **Рад у међународном часопису (M23)**

1. Popović T., Borozan, S., Takić M., Kojadinović M., Rankovic S., Ranić M., de Luka S.: *Fatty acid composition and oxidative stress parameters in plasma after fish oil supplementation in aging*, - Croatica Chemica Acta, 2014, (2405-13, in press), IF= 0.067 (2013), ISSN 0011-1643
2. Cvetković Z., Vučić V., Cvetković B., Karadžić I., Ranić M., Glibetiћ, M.: *Distribution of plasma fatty acids is associated with response to chemotherapy in non-Hodgkin's lymphoma patients*, - Medical Oncology, Vol 30, No 4, 2013, pp. 1-7. IF= 1.972 (2013), ISSN 1357-0560
3. Popovic T, Ranic M., Bulajic P., Milicevic M., Arsic A., Vucic V., Glibetic, M.: *Effects of fatty acids supplementation on plasma phospholipids fatty acids composition in patients in obstructive jaundice - a pilot study*, - Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, Vol 45, 2009, pp 370-375 IF= 1.672 (2009), ISSN 0912-0009

4. Cvetkovic Z., Cvetkovic B., Petrovic M., Ranic M., Debeljak-Martacic J., Vucic V., Glibetic M. *Lipid profile as a prognostic factor in cancer patients*, - Journal of B.U.O.N., Vol 14, 2009, pp.501-506. IF= 0.600 (2009), ISSN 1107-0625

#### **Предавање по позиву са међународног скупа штампано у изводу (M32)**

1. Ranic M. , Kurbanova A.G., Sedik D. Demes M.: *FAO Regional Policy Consultation on High Food Prices for the Europe and Central Asia Region*, - CD of Abstracts of the World Nutrition Congress 2012, Rio de Janeiro, Brasil 2012, No 17229

#### **Научна саопштења:**

#### **Саопштење са међународног скупа штампано у изводу (M34)**

1. Ranic M., Pavlovic M., Siler-Marinkovic S., Dimitrijevic Brankovic S.: A study on total polyphenols content in spent coffee extracts (black, espresso and filter coffee),- *Annals of Nutrition and Metabolism*, 20th International Congress of Nutrition, Granada, Spain 2013, Vol. 63, pp. 1655-1656.
2. Gurinovic M., Glibetic M., Oshaug A., Dupouy E., Novakovic R., Ranic M....Finglas P.: *Capacity Development in Food and Nutrition in Central and Eastern Europe*, - Book of Abstracts for CEFood 2012, Novi Sad, Serbia 2012, pp. 591-592.
3. Gurinovic M., Glibetic M., Oshaug A., Dupouy E., Novakovic R., Ranic M., Satalic Z., Spiroski I., Hadziomeragic A., Finglas P.: *Results from capacity development experience in nutrition in Central and Eastern Europe*, - CD of Abstracts of the World Nutrition Congress 2012, Rio de Janeiro, Brasil 2012, No 17909.
4. Ranic M., Dimitrijevic Brankovic S., Arsic A., Ivanovic J., Milutinovic M., Siler-Marinkovic S.: *Fatty acid profiles of supercritical extracts of commercial espresso coffee and spent coffee*. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 11th FENS European Nutrition Conference, Madrid, Spain 2011, Vol. 58, pp. 102.
5. Milutinovic, Milica, Siler – Marinkovic Slavica, Ranic, Marija, Dimitrijevic – Brankovic Suzana. *Total polyphenols and antioxidative activity of water extracts of spent coffee*, - *Annals of Nutrition and Metabolism*, 11th FENS European Nutrition Conference, Madrid, Spain 2011, Vol. 58, pp. 396-397.
6. Ranic M., Nikolic M., Glibetic M., Plumb J., Finglas P., Kroon P.: *Comparison of commercially produced and hand-pressed citrus juice flavanone concentrations: A literature review of composition data*, - 5th International Conference on Polyphenols and Health (ICPH2011), Sitges, Barcelona, Spain 2011, P264, p.189
7. Ranic M., Glibetic M., Gurinovic M., Black L., Gry J., Kroon P., Finglas P., Kiely M., Plumb J.: *Evaluation and inputting of Compositional data on Flavanones in Food Plants in EuroFIR BASIS Database*, - Book of Abstracts of the 3rd International EuroFIR Congress, Vienna, Austria 2009, p.157, No 3\_57.

#### **Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу (M64)**

1. Vučić V., Popović T., Ranić M., Arandjelović A., Ristić-Medić D., Debeljak-Martačić J., Petrović-Oggiano G., Bulajić P., Miličić M, Glibetić M.: *Profil masnih kiselina fosfolipida seruma kod pacijenata sa hepatocelularnim karcinomom jetre – pilot studija*, - Zbornik sažetaka sa XLVII Kancerološke nedelje, Beograd, Srbija 2010, str. 55.

Поред објављених радова кандидата у периоду 2009. - 2014. године који су приложени у списку, тренутно је на рецензији рад у Journal of Food Composition and Analysis, под

насловом "*Nutrient profile of black coffee consumed in Serbia: filling a gap in Food Composition Database*".

### **1.3. Оцена подобности кандидата за рад на предложеној теми**

На основу досадашњег рада и показаних резултата током докторских студија и у оквиру научно-истраживачког рада, Марија Ранић је показала склоност и изразиту иновативност за бављење научно-истраживачким радом. То се огледа у потпуно самосталном креирању и реализацији истраживања, како везаних за тему докторске дисертације, тако и много шире. Такође, тема докторске дисертације припада области из које је кандидат аутор, резултирала је научним радом штампаним у врхунском међународном часопису као и низом саопштења на међународним скуповима, што указује на то да је кандидат компетентан за рад на предложеној теми докторске дисертације.

На основу изнетих података може се закључити да Марија Ранић испуњава све потребне услове за рад на предложеној теми докторске дисертације.

## **2. ПРЕДМЕТ И ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА**

Кафа је једно од најпопуларнијих и најчешће конзумираних пића данас у свету са годишњом производњом од преко 280 000 тона и преко 400 милијарди попијених шоља кафе сваке године. Сходно томе, отпад који се добија након припреме кафе у облику у ком се конзумира представља велики еколошки проблем али истовремено и велики потенцијал. Досадашња истраживања потврдила су могућност коришћења отпадне кафе као ђубрива, хране за животиње или као горива [1,2]. Бројни резултати који показују да се велики удео биолошки активних компонента кафе задржава у отпаду пружају рационалну основу за коришћење отпада и његову даљу прераду с циљем добијања међупроизвода са израженим функционалним карактеристикама и биолошком активношћу, као сировина у производњи функционалних намирница и дијететских суплемената [3,4,5].

Основне биолошки активне компоненте кафе су једињења која припадају фамилији полифенола. Полифеноли представљају најзначајније дијетарне антиоксидансе [6] а антиоксидативни капацитет кафе превасходно потиче од високог садржаја полифенола [7, 8, 9,10]. Могућност њиховог искоришћења као функционалних сировина представља важан алтернативни извор за добијање природних антиоксиданаса, са бројним предностима у односу на синтетичке [11].

Евалуација коришћења отпадне кафе као извора биолошки активних једињења подразумева пре свега хемијску карактеризацију у погледу садржаја полифенола [12], испитивање биолошке активности и примену ових метода у усмеравању технолошких поступака при добијању међупроизвода (сировина) или финалних производа намењених примени код људи. Предмет и основни циљ предложеног истраживања је испитивање могућности искоришћења отпада добијеног при припреми различитих типова конзумне кафе (еспreso и црне), као потенцијалног извора биолошки активних једињења са повољним ефектима на здравље људи.

Први део истраживања односио би се на одређивање оптималних услова екстракције полифенолних компоненти поларним растварачем (водени раствор етанола) из напитка и отпадне кафе уз помоћ микроталаса (MAE - Microwave-assisted extraction), применом Методе одзивних површина (RSM - Response Surface Method), упоредним праћењем резултата екстракције на који утичу различите променљиве: време екстракције, однос течност-чврсто и снага микроталаса. MAE је у досадашњим радовима разматрана као алтернатива конвенционалним методама екстракције полифенола из отпадне кафе органским растварачима [13]. У контексту оптимизације целог система, RSM је последњих година у широкој употреби [14]. У добијеном течном екстракту одређиваће се садржај укупних полифенола и њихова антиоксидативна активност применом хемијских тестова заснованих на различитим механизмима антиоксидативног деловања (способност неутрализације различитих радикала).

Најновија сазнања показују да антиоксидативни потенцијал полифенола показан у хемијским системима није гаранција њиховог антиоксидативног потенцијала *in vivo*, пре свега због интензивног метаболизма и мале биорасположивости нативних полифенола [6]. Истовремено, показано је да метаболити полифенола представљају сигналне молекуле за велики број биолошких ефеката који се не заснивају на антиоксидативном деловању.

За процену повољног биолошког деловања екстракта добијених из отпада конзумне кафе и самог напитка у превенцији кардиоваскуларних болести (КВБ), у оквиру предложене тезе испитиваће се њихов утицај на активациони статус тромбоцита и повезаност са антиоксидативним потенцијалом у овом *in vitro* моделу, применом проточне цитометрије. Тромбоцити имају важну улогу у патогенези кардиоваскуларних болести. Такође, показана је изразита повезаност поремећаја функције тромбоцита и присуства класичних фактора ризика за настанак КВБ укључујући пушење, хиперлипидемију, хипергликемију, гојазност и метаболички синдром. У складу са тим, смањење активације и агрегације тромбоцита деловањем намирница и њихових састојака уврштено је у листу потврђених механизма њиховог деловања у очувању кардиоваскуларног здравља [15].

Бројне епидемиолошке студије показале су повољно деловање полифенола у превенцији кардиоваскуларних болести, које се једим делом испољава и деловањем на функцију тромбоцита, што је показано у *in vitro* условима [16, 17, 18] и потврђено у дијетарним интервентним студијама код људи [19]. Специфично, полифеноли кафе такође делују на различите маркере активације тромбоцита у *in vitro* условима [20], *in vivo* [21] и након конзумације кафе [22]. Проточна цитометрија представља једну од најоптималнијих метода испитивања утицаја дијетарних састојака на тромбоците. Утицај екстракта добијених из отпада конзумне кафе на функцију тромбоцита пратиће се применом проточне цитометрије и праћењем експресије два површинска антигена као активационих маркера: Р-селектина (одговорног за улогу активираних тромбоцита у атеросклерози) и GPIIb/IIIa (одговорног за улогу тромбоцита у тромбози), као и њихова агрегација са моноцитима и неутрофилима посредована овим антигенима. Механизам активације тромбоцита укључује и генерисање реактивних врста кисеоника (РВК) и азота (РВА) Потенцијал екстракта да својим антиоксидативним деловањем утичу на активациони статус тромбоцита испитиваће се упоредним одређивањем нивоа РВК и РВА бојењем флуоресцентним бојама осетљивим на специфичне радикале унутар ћелија (DCFDA, DHR i DAF) [17,23]. Процена интраћелијског антиоксидативног потенцијала даће увид и у ефикасност транс-мембранског транспорта биоактивних молекула и њиховог деловања у биолошким системима.

На основу досадашњих оригиналних истраживања, базираних на примени 24-сатне анкете исхране (24-h dietary food recall questionnaires - 24-HDR) и анкетних упитника о учестаности конзумирања хране (Food Frequency Questionnaire - FFQ), спроведених у оквиру CHANCE FP7 пројекта за Србију показано је да велики проценат одраслог становништва у Србији конзумира кафу свакодневно и да је најчешће конзумирана црна (тзв. турска) кафа, припремљена на традиционалан начин. С обзиром да у Српској бази података о саставу намирница не постоје аналитички подаци о саставу црне кафе, део истраживања ће се односити на одређивање садржаја основних састојака напитка припремљеног на традиционални начин, укључујући анализу садржаја протеина, воде, пепела, масти, масних киселина, минерала, кофеина, хлорагене киселине). Примењена методологија узорковања, анализе и уношења у базу у складу је са EuroFIR (European Food Information Resource Network) критеријума и техничког анекса [24, 25].

### Литература:

1. Saenger M, Hartge EU, Werther J, Ogada T, Siagi Z. *Combustion of coffee husks*. Renewable Energy 2001;23(1):103-121.
2. Silva MA, Nebra SA, Machado Silva MJ, Sanchez CG. *The use of biomass residues in the Brazilian soluble coffee industry*. Biomass and Bioenergy 1998;14(5-6):457-467.
3. Murthy P, Naidu MM. *Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products*. Food and Bioprocess Technology 2012;5(3):897-903.
4. Mussatto SI, Ballesteros LF, Martins S, Teixeira JA. *Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds*. Separation and Purification Technology 2011;83(0):173-179.
5. Bravo J, Juárez I, Monente C, Caemmerer B, Kroh LW, De Peña MP, et al. *Evaluation of Spent Coffee Obtained from the Most Common Coffeemakers as a Source of Hydrophilic Bioactive Compounds*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2012;60(51):12565-12573.
6. Hollman PC, Cassidy A, Comte B, Heinonen M, Richelle M, Richling E, et al. *The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols for cardiovascular health in humans is not established*. J Nutr 2011;141(5):989S-1009S.
7. Charurin P, Ames JM, del Castillo MD. *Antioxidant activity of coffee model systems*. J Agric Food Chem 2002;50(13):3751-6.
8. Richelle M, Tavazzi I, Offord E. *Comparison of the antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (coffee, cocoa, and tea) prepared per cup serving*. J Agric Food Chem 2001;49(7):3438-42.
9. Sánchez-González I, Jiménez-Escrig A, Saura-Calixto F. *In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter)*. Food Chemistry 2005;90(1-2):133-139.
10. Yen WJ, Wang BS, Chang LW, Duh PD. *Antioxidant properties of roasted coffee residues*. J Agric Food Chem 2005;53(7):2658-63.
11. Shahidi F. Antioxidants in food and food antioxidants. Nahrung 2000;44(3):158-63.
12. Esquivel P, Jiménez VM. *Functional properties of coffee and coffee by-products*. Food Research International 2012;46(2):488-495.
13. Upadhyay R, Ramalakshmi K, Jagan Mohan Rao L. *Microwave-assisted extraction of chlorogenic acids from green coffee beans*. Food Chemistry 2012;130(1):184-188.
14. Bezerra MA, Santelli RE, Oliveira EP, Villar LS, Escalera LA. *Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry*. Talanta 2008;76(5):965-977.

15. EFSA Panel on Dietetic Products NaAN. *Guidance on the scientific requirements for health claims related to antioxidants, oxidative damage and cardiovascular health*. EFSA Journal 2011;9(12).
16. Ueno M, Kodali M, Tello-Montoliu A, Angiolillo DJ. *Role of platelets and antiplatelet therapy in cardiovascular disease*. J Atheroscler Thromb 2011;18(6):431-42.
17. Konić Ristić A, Srdić-Rajić, T., Kardum, N. Glibetić, M. *Biological activity of Aronia melanocarpa antioxidants pre-screening in an intervention study design*. J Serb Chem Soc 2013;78(3):429–443.
18. Hollands WJ, Saha S, Hayran O, Boyko N, Glibetic M, Konic-Ristic A, et al. *Lack of effect of bioactive-rich extracts of pomegranate, persimmon, nettle, dill, kale and Sideritis and isolated bioactives on platelet function*. J Sci Food Agric 2013;93(14):3588-94.
19. Ostertag LM, O'Kennedy N, Kroon PA, Duthie GG, de Roos B. *Impact of dietary polyphenols on human platelet function--a critical review of controlled dietary intervention studies*. Mol Nutr Food Res 2010;54(1):60-81.
20. Naito S, Yatagai C, Maruyama M, Sumi H. *Effect of coffee extracts on plasma fibrinolysis and platelet aggregation*. Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi 2011;46(2):260-9.
21. Bhaskar S, Rauf AA. *Modulatory effect of coffee on platelet function*. Indian J Physiol Pharmacol 2010;54(2):141-8.
22. Natella F, Nardini M, Belevi F, Pignatelli P, Di Santo S, Ghiselli A. *Effect of coffee drinking on platelets: inhibition of aggregation and phenols incorporation*. Br J Nutr 2008;100(6):1276-82.
23. Stanojković T. K-RA, Kljajić Z., Grozdanić-Stanisavljević N., Srdić-Rajić T., Zdunić G., Šavikin K. *Antioxidant, antiplatelet and cytotoxic activity of extract of Cystoseira amentacea from the coast of Montenegro (South-East Adriatic Sea)*. Dig J Nanomater Bios 2014;9(2):869-880.
24. Castanheira I, Roe M, Westenbrink S, Ireland J, Møller A, Salvini S. *Establishing quality management systems for European food composition databases*. Food Chemistry 2009;113(3):776-780.
25. Oseredczuk, M., Salvini, S., Roe, M., Moller, A. (2009). Eurofir Workpackage 1.3, Task Group 4. *Guidelines for Quality Index Attribution to Original Data from Scientific Literature or Reports for Eurofir Data Interchange*, retrieved from [www.eurofir.org](http://www.eurofir.org).

### 3. ПОЛАЗНЕ ХИПОТЕЗЕ

На основу детаљног литературног прегледа закључено је да велика количина полифенола као главних носиоца антиоксидативне активности у кафи остаје у отпадној кафи после припреме конзумне кафе, и као таква, отпадна кафа (еспресо и црна) може представљати јефтин и доступан извор за даљу прераду и добијање природних антиоксиданаса. У ту сврху, потребно је прецизно дефинисати оптималне услове екстракције антиоксиданаса из отпадне кафе нетоксичним растварачима, узимајући садржај полифенола и антиоксидативни потенцијал добијених екстраката као основни критеријум у евалуацији.

Истовремено, имајући у виду да састојци кафа показују анти-агрегациони ефекат на тромбоцитима, процена биолошког деловања овако добијених екстраката на функцију тромбоцита као и антиоксидативни потенцијал на овом ћелијском моделу представља

рационалан приступ у евалуацији њихове примене као функционалних сировина за дијетеске производе.

Први део ове докторске дисертације односиће се на дефинисање оптималних услова екстракције антиоксиданаса из отпадне кафе (еспreso и црна), тј. хемијску карактеризацију отпадне кафе, садржај полифенола и других биолошки активних компоненти и одређивање антиоксидативног потенцијала хемијским методама. Други део тезе обухватиће испитивање антитромбоцитног деловања добијених екстраката напитка и отпадне кафе и њиховог антиоксидативног деловања у истом ћелијском моделу. Процена значаја конзумације кафе у превенцији болести и промоцији здравља заснива се на садржају нутритивних и ненутритивних састојака. У том смислу, у оквиру ове дисертације спровешће се детаљна анализа ових састојака заснована на међународно прихваћеним критеријумима квалитета и добијени резултати биће унети у Српску базу састава намирница.

#### **4. НАУЧНЕ МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА**

Методе истраживања обухватају извођење експеримената за прецизно дефинисање оптималних услова екстракције полифенола из конзумне и отпадне кафе, праћењем резултата екстракције на који утичу различите променљиве применом RSM, употребом централног композитног  $2^3$  факторијалног експерименталног дизајна. За оптимизацију процеса и статистичку анализу користиће се програмски пакет Design Expert 8 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, USA).

Утицај добијених екстраката на активност тромбоцита и ниво реактивних врста у њима у *in vitro* условима, пратиће се применом проточне цитометрије, на основу претходно успостављених ћелијских модела.

Методологија које се односи начин узорковања, квалитативну анализу састојака напитка од кафе и уношење у базу података, уључујући параметре квалитета, биће у сагласности са критеријуми EuroFIR-а, дефинисаним техничким анексом, као и важећим препорукама и стандардима у области аналитике састава намирница (АОАС).

#### **5. АКТУЕЛНОСТ ПРОБЛЕМАТИКЕ У СВЕТУ И ОЧЕКИВАНИ НАУЧНИ ДОПРИНОС**

Резултати који проистекну из рада на овој докторској дисертацији могу представљати значајан допринос одрживости система прерађивања и потрошње кафе који може бити знатно побољшан коришћењем отпадне кафе, усвајањем нових технологија које максимизирају профитабилност процеса. Анализе и резултати добијени у овој студији могу бити од великог значаја за будућу експлоатацију отпадне кафе као драгоценог извора природног антиоксиданаса у индустријским размерама. Приказани подаци могу бити поуздане смернице за производњу обогаћене хране или дијететских суплемената.

Очекују се следећи кључни научни доприноси као резултат истраживања:

- Доказ ефикасности микроталасне екстракције полифенола из отпадне кафе уз коришћење RSM у процени ефеката три независне променљиве на екстракцију при

одређивању оптималних услова у циљу постизања максималног приноса екстракције користећи мање количине не-токсичних растварача са знатно краћим временом екстракције;

- Предложени модел за циклично поновно искоришћење отпадне кафе као значајан допринос дефинисању отпадне кафе као новог, јефтиног природног извора антиоксиданаса и замене за синтетичке антиоксидансе;
- Подаци о деловању екстраката кафе и отпадне кафе на функцију тромбоцита пружиће рационалну основу за њихову примену као функционалних састојака хране у промоцији здравља (као и релевантне доказе о рационалности испитивања у оквиру дијетарних интервенција усмерених и додатних научних доказа неопходних за добијање „здравствене изјаве“.)
- Очекује се унос добијених аналитичких вредности за црну кафу у Српску базу података намирница, и размену кроз EuroFIR FoodEXplorer, мета-претраживач, који омогућава истовремено претраживање 27 националних база података намирница, повезаних са EuroFIR-ом, као помоћ у дефинисању нутритивних препорука и успостављању здравствене политике на националном нивоу.

## 6. ПЛАН ИСТРАЖИВАЊА И СТРУКТУРА РАДА

Предвиђено је да докторска дисертација има следећа поглавља: *Увод, Теоријски део, Експериментални део, Резултати и дискусија, Закључак и Литература.*

Поглавље *Увод* обухватиће актуелност проблематике, предмет истраживања и очекивани допринос.

*Теоријски део* обухватиће преглед литературе у оквиру досадашњих истраживања на тему могућег искоришћења отпадне кафе, оптимизације процеса екстракције биолошки активних компоненти и биолошку активност конзумне и отпадне кафе. Део ће бити посвећен базама података о саставу намирница и критеријумима за продукцију аналитичких података за унос у базу.

*Експериментални део* обухватиће:

- Матријал и опрему
- Припрему узорака
- Одређивање суве материје
- Поступак екстракције
- Одређивање садржаја полифенола
- Одређивање антиоксидативне активности FRAP методом
- Испитивање способности неутрализације DPPH радикала
- Детаљан приказ ћелијских модела и услова за *in vitro* испитивање антиоксидативног и антитромбоцитног деловања екстраката кафе и отпадне кафе (изоловање тромбоцита, параметри проточне цитометрије, припрема екстраката и физиолошки релевантних доза)
- Одређивање нутритивних и ненутритивних компонената

У поглављу **Резултати и дискусија** биће приказана анализа резултата добијених спроведеним експериментима, као и дискусија добијених резултата. Детаљно ће бити приказано постављања модела оптимизације услова екстракције за добијање максималног приноса полифенола из узорака отпадне кафе (еспресо и црне). Добијени подаци о антитромбоцитном деловању екстракта кафе и отпадне кафе анализираће се у односу на њихов квантитативни састав и антиоксидативни потенцијал у хемијским есејима и на тромбоцитима као ћелијском моделу. Резултати ће се поредити са релевантним подацима из доступне научне литературе. У складу са тим донеће се закључци о потенцијалној примени отпадне кафе у производњи функционалних намирница и суплемената.

Детаљно ће бити приказани резултати нутритивног и ненутритивног састава црне кафе (протеина, воде, пепела, масти, масних киселина, минерала, кофеина, хлорагене киселине) и садржај упоређивати са садржајем у другим базама података о саставу намирница добијеним упоредним прегледом употребом EuroFIR FoodExplorer-a, мета-претраживача. На основу добијених резултата, оцениће се нутритивни значај конзумирања црне кафе одрасле популације у Србији.

У поглављу **Закључак** на основу извршених експеримената биће сумирани сви добијени резултати.

Поглавље **Литература** ће обухватити наводе цитиране у дисертацији обухватајући и радове проистекле у току рада на докторској дисертацији.

## 7. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

На основу изложеног Комисија сматра да је тема докторске дисертације коју је предложила Марија Ранић, дипл. инж. технологије, научно заснована и да представља значајан допринос научној области ТЕХНОЛОШКО ИНЖЕЊЕРСТВО, ужа научна област Биохемијско инжењерство и биотехнологија за коју је Технолошко-металуршки факултет Универзитета у Београду матична установа. Комисија предлаже Наставно-научном већу Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду да кандидату Марији Ранић одобри израду докторске дисертације под насловом „**АНТИОКСИДАТИВНА АКТИВНОСТ ЕКСТРАКТА КАФЕ И ОТПАДНЕ КАФЕ И ЊИХОВ УТИЦАЈ НА АКТИВАЦИЈУ ТРОМБОЦИТА**”.

За ментора докторске дисертације Комисија предлаже др Сузана Димитријевић Бранковић, ванредног професора Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду, а за коментора др Марију Глибетић, научног саветника Института за медицинска истраживања, Универзитета у Београду.

У Београду, 03.10.2014. године

### ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Проф. др Сузана Димитријевић Бранковић, ванредни професор  
Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Др Марија Глибетић, научни саветник  
Универзитет у Београду, Институт за медицинска истраживања

Проф. Др Славица Шилер-Маринковић, редовни професор  
Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Проф. Др Душан Антоновић, редовни професор  
Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет