

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији

Молимо да, сходно члану 46. ст. 5. Статута Универзитета у Београду (“Гласник Универзитета” број 131/06),
дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији кандидата

БОЈАНЕ (Дејан) БАЛАНЧ (рођена ИСАИЛОВИЋ), дипл. инж.
(име, име једног од родитеља и презиме)

КАНДИДАТ: **БОЈАНА (Дејан) БАЛАНЧ, дипл. инж**

пријавила је докторску дисертацију под називом:

„Липозоми и системи липозоми-алгинат за контролисано отпуштање ресвератрола“

Из научне области: **ТЕХНОЛОШКО ИНЖЕЊЕРСТВО**

Универзитет је дана **06.07.2015.** године, својим актом **02 број: 61206-3085/2-15** дао сагласност
на предлог теме докторске дисертације која је гласила:

„Липозоми и системи липозоми-алгинат за контролисано отпуштање ресвератрола“

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата:

БОЈАНЕ (Дејан) БАЛАНЧ, дипл. инж.
(име, име једног од родитеља и презиме)

образована је на седници одржаној **28.01.2016.** године Одлуком Факултета под бр. **35/25,** у
саставу:

Име и презиме	Звање	Научна област
1. Др Бранко Бугарски	Редовни професор	Хемијско инжењерство
2. Др Зорица Кнежевић-Југовић	Редовни професор	Биохемијско инжењерство и биотехнологија
3. Др Рада Пјановић	Доцент	Хемијско инжењерство
4. Др Верица Ђорђевић	Научни сарадник	Хемијско инжењерство
5. Др Виктор Недовић	Редовни професор	Биотехничке науке

Наставно-научно веће Факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске
дисертације на седници одржаној дана **26.05.2016.** године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

На основу чл. 30. став 3. Закона о високом образовању, чл. 40. Статута ТМФ и чл. 39. Правилника о докторским студијама ТМФ, на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 26.05.2016. године, донета је

О Д Л У К А

о прихватању Реферата о оцени докторске дисертације

Прихвата се Реферат Комисије у саставу: др Бранко Бугарски, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет, др Зорица Кнежевић-Југовић, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет, др Рада Пјановић, доцент Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет, др Верица Ђорђевић, виши научни сарадник Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет, др Виктор Недовић, редовни професор Универзитета у Београду, Пољопривредни факултет, о прегледу и оцени урађене докторске дисертације под називом: „Липозоми и системи липозоми-алгинат за контролисано отпуштање ресвератрола“ коју је поднела Бојана Баланч (рођ. Исаиловић), дипл. инж. и упућује се на сагласност Већу научних области техничких наука Универзитета у Београду. Веће научних области техничких наука Универзитета у Београду дало је сагласност на предлог теме докторске дисертације Бојане Баланч под називом „Липозоми и системи липозоми-алгинат за контролисано отпуштање ресвератрола“ Одлуком 02 број: 61206-3085/2-15 од 06.07.2015. године.

Верификација научних доприноса:

Категорија М21:

1. Balanč, B.D., Ota, A., Djordjević, V.B., Šentjurs, M., Nedović, V.A., Bugarski, B.M., Poklar Ulrih, N.: Resveratrol-loaded liposomes: interaction of resveratrol with phospholipids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117, 1615–1626, 2015 (IF=2.003) (ISSN: 1438-7697).
2. Isailović, B., Kostić, I., Zvonar, A., Đorđević V., Gašperlin, M., Nedović, V., Bugarski, B.: Resveratrol loaded liposomes produced by different techniques. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19, 181–189, 2013 (IF=2.248) (ISSN: 1466-8564).

Категорија М33:

1. Isailović, B., Trifković, K., Kostić, I., Pjanović, R., Marković, S., Nedović, V., Bugarski, B.: „Microbeads based on alginate used for prolonged release of resveratrol,“ - IV International Congress: „Engineering, Environment and Materials in Processing Industry“, CD proceedings pp 307-311, 04.03-06.03.2015, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, DOI: 10.7251/EEMSR1501307I, ISBN 978-99955-81-18-3
2. Trifković, K., Isailović, B., Milašinović, N., Jovanović, A., Knežević-Jugović, Z., Djordjević, V., Bugarski, B.: „Mechanical properties of alginate-liposomes-based beads with encapsulated resveratrol,“ - IV International Congress: „Engineering, Environment and Materials in Processing Industry“, CD proceedings pp. 318-325, 04.03-06.03.2015, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, DOI: 10.7251/EEMEN1501318T, ISBN 978-99955-81-18-3

3. Isailović, B.D., Kostić, I.T., Đorđević, V.B., Nedović, V.A., Bugarski, B.M.: „Proliposome and thin film method for production of liposomes incorporating resveratrol,“- *III International Congress: "Engineering, Environment and Materials in Processing Industry"*, Jahorina, Bosna i Hercegovina, 04-06 March 2013. *Proceedings*, ISBN 978-99955-81-11-4, pp 247-253.
4. Isailović, B., Đorđević, V., Nedović, V., Bugarski, B.: "Liposome-in-alginate systems for encapsulation of natural antioxidants,"- *Inside Food symposium*, April 9-12, 2013, Leuven, Belgium. *Book of Abstracts and Full Papers*, pp 1-5 http://www.insidefood.eu/INSIDEFOOD_WEB/UK/WORD/proceedings/092P.pdf
5. Isailović, B.D., Kostić, I.T., Zvonar, A., Đorđević V.B., Gašperlin, M., Nedović, V.A., Bugarski B.M.: "Encapsulation of natural antioxidant resveratrol in liposomes,"- *6th Central European Congress on Food*, 23-26 May 2012, Novi Sad, Serbia, *Book of Abstracts and Full Papers*, Published by: University of Novi Sad, Institute of Food Technology, Novi Sad, Serbia, ISBN 978-86-7994-027-8, pp. 1046-1052.

Категорија M34:

1. Balanč, B., Djordjević, V., Marković, S., Trifković, K., Kostić, I., Nedović, V., Bugarski, B.: "Liposome-in-hydrogel systems for delivery of antioxidants,"- *II International Congress „Food Technology, Quality and Safety“*, 28-30. October 2014, Novi Sad, Serbia. *Book of abstracts*, Eds.: Lević J., Brlek T., Pojić M., ISBN 978-86-7994-041-4, p83.
2. Isailović, B., Ota, A.; Djordjević, V., Šentjerc, M., Nedović, V., Bugarski, B., Poklar Ulrih, N: „Influence of resveratrol on membrane fluidity of proliposomes,“- *1st Congress on Food Structure Design, Book of Abstracts*, Eds: Vicente A.A., Silva C.L.M., Piazza L., 15-17th October 2014, Porto, Portugal, ISBN: 978-989-97478-5-2, p.44.

Категорија M63:

1. Isailović, D.B, Kostić T.I., Trifković, T.K., Stojanović, N.R., Zarić, M.M., Đorđević, B.V., Bugarski, M.B.: „Difuzija resveratrola iz lipidnih mikročestica dobijenih različitim tehnikama,“- *Prva konferencija mladih hemičara Srbije, Zbornik radova*, Klub mladih hemičara Srbije, Srpsko hemijsko društvo, Beograd 19. – 20. oktobar, 2012, urednici, I. Opsenica, A. Dekanski, ISBN 978-86-7132-051-1, pp. 115-119

Докторска дисертација и Реферат о оцени докторске дисертације достављају се на увид јавности, а по истеку рока од 30 дана, на сагласност Већу научних области техничких наука Универзитета у Београду.

Одлуку доставити: Већу научних области техничких наука Универзитета, докторанду, ментору, Служби за наставно-студентске послове, Библиотеци и Архиви факултета.

Д Е К А Н

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Реферат о урађеној докторској дисертацији кандидата **Бојане Д. Баланч (рођ. Исаиловић)**, дипл. инг.

Одлуком 35/25 бр. од 28.01.2016. године, именовани смо за чланове Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације кандидата **Бојане Д. Баланч (рођ. Исаиловић)**, дипл. инг. под насловом

„Липозоми и системи липозоми-алгинат за контролисано отпуштање ресвератрола“.

После прегледа достављене Дисертације и других пратећих материјала и разговора са Кандидатом, Комисија је сачинила следећи

РЕФЕРАТ

1. УВОД

1.1. Хронологија одобравања и израде дисертације

01.05.2014. – Кандидат Бојана Д. Баланч дипл. инг., предложила је тему докторске дисертације под називом: „Липозоми и системи липозоми-алгинат за контролисано отпуштање ресвератрола“.

11.05.2015. – На седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета у Београду донета је Одлука бр. 35/198 о именовању Комисије за оцену подобности теме и кандидата Бојане Д. Баланч, дипл. инг. за израду докторске дисертације под називом: „Липозоми и системи липозоми-алгинат за контролисано отпуштање ресвератрола“.

05.06.2015. – На седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета у Београду донета је Одлука бр. 35/220 о прихватању Реферата Комисије за оцену подобности теме и кандидата и одобравању израде докторске дисертације Бојане Д. Баланч, дипл. инг., под називом: „Липозоми и системи липозоми-алгинат за контролисано отпуштање ресвератрола“, а за менторе ове докторске дисертације је именован др Бранко Бугарски, редовни професор Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду.

05.06.2015. – На седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета у Београду донета је Одлука бр. 35/237 о продужењу рока за завршетак студија за још два семестра школске 2015/2016. године.

06.07.2015. – На седници Већа научних области техничких наука Универзитета у Београду дата је сагласност на предлог теме докторске дисертације Бојане Д. Баланч, дипл. инг., под називом: „Липозоми и системи липозоми-алгинат за контролисано отпуштање ресвератрола“.

28.01.2016. – На седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета у Београду донета је Одлука бр. 35/25 о именовању Комисије за оцену и

одбрану докторске дисертације Бојане Д. Баланч, дипл. инг., под називом: „ Липозоми и системи липозоми-алгинат за контролисано отпуштање ресвератрола“

Кандидат Бојана Д. Баланч, уписала је докторске академске студије на Технолошко-металуршком факултету, Универзитета у Београду, смер Биохемијско инжењерство и биотехнологија, школске 2009/2010 године.

1.2. Научна област дисертације

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације припадају научној области Технолошко инжењерство, ужа научна област Биохемијско инжењерство и биотехнологија, за коју је матичан Технолошко-металуршки факултет, Универзитета у Београду. За ментора ове докторске дисертације именован је др Бранко Бугарски, редовни професор Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду

Ментор др Бранко Бугарски, редовни професор Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду из ове области публиковао преко двадесет радова у часописима који су на СЦИ листи. Руководио је израдом седам одбрањених докторских дисертација, што говори о компетентности ментора да руководи израдом ове докторске дисертације.

1.2. Биографски подаци о кандидату

Кандидат **Бојана (Дејан) Баланч (рођ. Исаиловић)**, дипломирани инжењер технологије, рођена је 26.09.1985. године у Београду, Република Србија, где је стекла основно и средње образовање (Гимназија, природно–математички смер). Године 2004. уписала је Технолошко–металуршки факултет Универзитета у Београду, а дипломирала је 2009. године на смеру Фармацеутско инжењерство са просечном оценом 9.08, одбравивши дипломски радом на тему „Инкапсулација полифенолних једињења из екстракта чаја у алгинатне честице“. Докторске студије на Технолошко-металуршком факултету, Универзитета у Београду, смер Биохемијско инжењерство и биотехнологија, уписала је школске 2009/2010. године .У октобру 2011. одбранила је завршни рад под називом „Инкапсулација антиоксидативних једињења у липозоме: пролипозомна метода и метода танког филма“ са оценом 10. У оквиру докторских студија положила је све испите предвиђене студијским програмом, са просечном оценом 10.

Од фебруара 2011. године запослена је у Иновационом центру Технолошко-металуршког факултета као истраживач-приправник, а од 2013. прелази у звање истраживач-сарадник. Ангажована је на пројекту интегралних и интердисциплинарних истраживања из области пољопривреде и хране: „Развој нових инкапсулационих и ензимских технологија за производњу биокатализатора и биолошки активних компонената хране у циљу повећања њене конкурентности, квалитета и безбедности“, Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (број пројекта ИИИ 46010). Поред овога учествовала је и на два билатерална пројекта (са Републиком Словенијом и Републиком Португал), као и на једном иновационом пројекту. Такође, члан је акције ФА1001 у оквиру COST Европске кооперације за науку и технологију. Од фебруара 2016. руководилац је билатералног пројекта са Републиком Словенијом за период 2016-2017, под називом „Липозоми обложени биополимерима као нови системи за доставу природних фенолних компонената“.

2. ОПИС ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Садржај дисертације

Докторска дисертација кандидата Бојане Д. Баланч, дипл. инг., садржи 171 страну (од којих је 158 нумерисано) у оквиру којих се налази 8 поглавља, са укупно 47 слика, 12 табела и 220 литературних навода. Докторска дисертација садржи: Увод, Теоријске основе, Циљеве рада, Експериментална испитивања, Резултате, Дискусију, Закључке и Литературу. На почетку дисертације дати су изводи на српском и енглеском језику. По својој форми и садржају, поднети рад задовољава све стандарде Универзитета у Београду за докторску дисертацију.

2.2. Кратак приказ појединачних поглавља

У Уводу су образложени предмет и циљеви истраживања, као и научни допринос докторске тезе. У оквиру Теоријског дела (1. поглавље) дисертације дат је литературни преглед предметне области, изложен кроз четири целине. Дат је увид у важност природних антиоксиданаса уз нарочит осврт на ресвератрол, његове особине, предности и недостатке. Даље су описани системи за инкапсулацију биолошки активних компоненти где су истакнути системи који су до сада познати у литератури за инкапсулацију ресвератрола. Дат је увид у појам контролисаног отпуштања као једног од циљева инкапсулације и у појам преноса масе у инкапсулационим системима. Нарочито су описани липозоми као системи за инкапсулацију уз преглед њихових основних карактеристика и метода за припрему и сложени системи липозоми-полимер где је дато детаљно образложење избора полимера и методе припреме који се примењују у овој тези. Циљеви рада изложени су у засебном поглављу (2. поглавље).

У Експерименталном делу (3. поглавље) дисертације описани су материјали и методе, према редоследу експерименталног истраживачког рада. Прво су описане методе за припрему и карактеризацију липозома са инкапсулираним ресвератролом. Описане су метода танког филма и пролипозомна метода, као и метода екструзије и соникације, а у наставку и методе за карактеризацију овако припремљених липозома као што су одређивање величине липозома и њихове стабилности, квантитативно одређивање степена инкапсулације ресвератрола, микроскопија атомских сила, различити антиоксидативни тестови, затим две методе за одређивање положаја ресвератрола у липозомима као и утицаја ресвератрола на флуидност мембране. Описана је и метода за праћење кинетике отпуштања ресвератрола из липозома и квантитативно одређивање коефицијента дифузије ресвератрола као и отпора који даје липозомна мембрана. Даље је описана процедура припреме сложених система липозоми-алгинат. Дат је и опис свих метода за карактеризацију ових система где спадају реолошка мерења почетних смеша, величина и расподела величина добијени честица, степен ефикасности инкорпорације ресвератрола у ове системе, скенирајућа електронска микроскопија попречних пресека сложених система и механичке карактеристике сложених система. Метода за праћење кинетике отпуштања ресвератрола такође је описана.

Резултати су приказани у 4. поглављу, а дискутовани у поглављу 5. У првом делу тезе испитане су карактеристике липозома припремљених методом танког филма и пролипозомном методом, а смањених методом екструзије или соникације. Поређењем резултата утврђено је да се, употребом комерцијалне липидне смеше при припреми липозома пролипозомном методом, добијају липозоми са око четири пута мањим пречником него што је то случај са липозомима припремљеним методом танког филма. Пролипозомна метода обезбеђује монодисперзну суспензију липозома, а накнадно

смањење величине липозома фаворизовало је методу екструзије над методом соникације. Испитана је и стабилност липозома током 21 дана, а утврђен је и степен инкапсулације ресвератрола у припремљене липозоме. Сви узорци липозома имали су висок степен инкапсулације (од 92 до 97%), осим липозома третираних ултразвучном сондом који су показали степен инкапсулације ресвератрола између 44 и 55%, а сличан тренд утврђен је и при тесту очуваности антиоксидативне активности. Диференцијална скенирајућа калориметрија потврдила је да је ресвератрол инкапсулиран унутар липозома и да постоје интеракције између ресвератрола и компоненти које чине липидни двослој. Испитана је и кинетика дифузије ресвератрола која је очекивано спорија из липозома него из раствора, па се максимална концентрација ресвератрола у акцепторском делу дифузионе ћелије достиже након двоструко више времена (200 мин.), а већи липозоми имају већи отпор преносу масе за око 75% у поређењу са мањим липозомима. Након кинетике примењене су и методе EPR и флуориметрија које су потврдиле да се ресвератрол уграђује у унутрашњи део липозомне мембране, а да се флуидност мембране смањује у присуству ресвератрола. Испитано је и да ли метода припреме липозома има утицаја на флуидности липидне мембране у присуству ресвератрола. Показано је и да ресвератрол има антиоксидативни потенцијал да инхибира формирање малондиалдехида и да смањује липидну пероксидацију, као и да ефикасно инхибира стварање ОН радикала. У другом делу тезе испитани су сложени системи липозоми-алгинат. Прво је испитан утицај вискозности почетних раствора где је утврђено да директно утиче на величину микрочестица. Нешто мањи пречник честица забележен је код узорака који су обложени хитозаном. Након тога је испитан степен инкорпорације ресвератрола у ове системе и утврђена је вредност између 85 и 91% за све формулације. Механичке карактеристике утврђене су при компресији у воденом медијуму до постизања 30% деформације. Оптичке методе дале су увид у унутрашњи простор честица где липозоми заузимају простор и формирају структуру са мање пора, што има утицај и на спорије отпуштање ресвератрола из ових система. Испитивање кинетике отпуштања ресвератрола потврдило је продужено отпуштање ове компоненте из свих система липозоми-алгинат испитаних у овој тези. Отпуштање ресвератрола при дужим временским интервалима спорије је код узорка ALG-LIP/RSV у поређењу са осталим формулацијама, а приметно је и да ни један систем не отпусти потпуну количину ресвератрола у току периода испитивања.

У поглављу 6 таксативно су приказани најважнији закључци, изведени на основу испитивања изложених у претходним поглављима. Након поглавља 6 наведене су референце коришћене током израде докторске дисертације.

3. ОЦЕНА ДИСЕРТАЦИЈЕ

3.1. Савременост и оригиналност

Докторска дисертација Бојане Д. Баланч за предмет има савремену тему истраживања која се односи на липозоме и сложене системе липозоми-алгинат за контролисано отпуштање ресвератрола. Ресвератрол је природни антиоксиданс који буди велика интересовања широм света због свог позитивног дејства на здравље људи. Истраживања показују да одређене популације (Французи и Грци) у мањем проценту оболевају од коронарних болести иако конзумирају храну богату мастима, управо због редовне конзумације црвеног вина које је богато ресвератролом. Ова појава позната је као „Француски парадокс“ и сматра се да образложење овог парадокса лежи у томе што ресвератрол регулише метаболизам масти и инхибира оксидацију липопротеина ниске

густине као и агрегацију тромбоцита. Ипак, овај антиоксиданс је изузетно подложен оксидацији, слабо растворан у води, има малу биорасположивост и слабо се апсорбује након оралне администрације. Додатак ресвератрола прехранбеним и фармацеутским производима на бази воде проблематичан је управо због ових карактеристика. Зато се интензивно трага за носачем (мембраном или синтетским полимером) који би омогућио његово продужено и контролисано отпуштање. Један такав носач на бази липида је липозом. Липозоми могу да се припреме употребом природних компоненти па је стога њихова примена знатно олакшана.

Инкапсулација представља један од начина да се неки од недостатака ресвератрола превазиђу, да се ова компонента заштити, повећа њена растворљивост, постигне контролисано отпуштање и да се уопштено омогући њена шира употреба. За инкапсулацију ресвератрола могу да се примене липозоми. У циљу припреме липозома најчешће се користи метода танког филма која се није показала као погодна за увећање производње што је основни предуслов за индустријску примену. Липозоми се припремају од природних компоненти па је стога њихова примена могућа како у козметичким, фармацеутским тако и у прехранбеним производима, али често скупа. Из поменутих разлога су у овој дисертацији испитани мали (погодни за фармацеутску примену) и велики (погодни за прехранбену индустрију) липозоми као биокompatibilни системи за инкапсулацију ресвератрола, припремљени различитим методама. За припрему је коришћена метода танког филма и пролипозомна метода за коју се сматра да може бити погодна за индустријску производњу. Липозоми су добијени од комерцијалне фосфолипидне смеше, а за смањење величине примењене су екструзија и соникација. Иако се сматрају за изузетно погодне и флексибилне системе за инкапсулацију, липозоми понекад могу да буду нестабилни. Тако, када је у питању медицинска и козметичка примена за циљано деловање, липозоми подлежу брзој фагоцитози. На овај начин липозоми брзо нестају из крвотока па је тако време отпуштања активне компоненте скраћено. Када је реч о примени у прехранбеним производима, иако се законске регулативе примене лако превазилазе због природног састава липозома, њихова орална администрација наилази на потешкоће услед ниске вредности рН у гастроинтестиналном тракту и присуства ензима који дестабилишу и разарају липозоме. Једно од могућих решења за превазилажење овог проблема је дисперговање липозома са инкапсулираном активном компонентом у честице на бази хидрогелова. Овакви сложени системи познати су у литератури као нове врсте завоја, инјектабилни депо системи или као формулације за трансдермалну апликацију, али се мало зна о примени ових система у прехранбеној индустрији. Сложени системи липозоми-хидрогел комбинују предности које имају липозоми и хидрогелови као засебни системи за инкапсулацију, а превазилазе њихове недостатке. Због тога је у овој дисертацији описан развој нових сложених система липозоми-хидрогел за инкапсулацију ресвератрола. Резултати ове докторске дисертације дају увид како научној јавности тако и индустријском сектору о потенцијалу за примену липозома са инкапсулираним ресвератролом, са идејом шире примене ових система као суплемената који могу да допринесу квалитету и нутритивној вредности већ постојећих производа. На основу опсежног прегледа литературе, може се закључити да се истраживања у оквиру ове докторске дисертације уклапају у светске трендове и указују на значај и актуелност проучавање проблематике.

3.2. Осврт на референтну и коришћену литературу

У оквиру докторске дисертације кандидата Бојане Д. Баланч, цитирано је 220 литературних навода који су омогућили да се прикаже стање у испитиваној области,

као и актуелност проблематике. Савремена истраживања објављена у наведеним научним радовима су описана, анализирана и дискутована и изведени су закључци који су омогућили добар увид потенцијал за примену липозома и система липозоми-алгинат како у козметичкој тако и у прехранбеној индустрији. На основу пажљиве анализе резултата приказаних у научној литератури изложене су основне смернице за истраживања која су извршена у овој докторској дисертацији. Из образложења предложене теме докторске дисертације и објављених радова у пријави, коју је кандидат поднео, као и из наведене литературе која је коришћена у истраживању, уочава се изузетно велико познавање предметне области истраживања, као и познавање актуелног стања истраживања у овој области у свету.

3.3. Опис и адекватност примењених научних метода

Сви резултати у оквиру ове дисертације су доказани одговарајућим експериментима, као и савременим аналитичким инструменталним мерењима према оригиналним или модификованим методама из литературе. Поред стандардне методе припреме липозома (метода танког филма) примењена је и пролипозомна метода, као и две методе за смањење величине липозома: екструзија и соникација. Карактеризација добијених липозома са инкапсулираним ресвератролом изведена је методама методом ласерске дифракције (величина липозома, индекс полидисперзије и површинско наелектрисање), микроскопије атомских сила (AFM), диференцијално скенирајућом калориметријом (DSC), флуоресцентном спектроскопијом, електронском парамагнетном резонанцијом. Степен инкапсулације ресвератрола утврђен је за све узорке, а антиоксидативни потенцијал ресвератрола након инкапсулације потврђен је антиоксидативним тестом (ABTS), електронском парамагнетном резонанцијом употребом спинског маркера (DEPMPO), као и тиобарбитурним тестом (TBARS). Праћење кинетике липидне оксидације у присуству ресвератрола изведено је уз употребу флуоресцентног липофилног маркера BODIPY 581/591 C11. Кинетика отпуштања ресвератрола праћена је у Францовој дифузионој ћелији.

Сложени системи липозоми-алгинат са инкапсулираним ресвератролом припремљени су методом електростатичке екструзије. Анализа ових система вршена је кроз реолошка мерења почетних смеша, затим је величина микрочестица анализирана методом ласерске дифракције, а примењена је и оптичка микроскопија као и скенирајућа електронска микроскопија (SEM) за коју је била потребна специјална претприпрема узорака. Даље је примењена и диференцијална скенирајућа калориметрија, док је метода за механичка испитивања на савременом уређају за тестирање механичких карактеристика материјала AG-X plus Universal Testing у режиму компресије посебно прилагођена овој врсти узорка. Кинетика отпуштања ресвератрола из сложених система такође је праћена у Францовој дифузионој ћелији.

3.4. Применљивост остварених резултата

Након поређења резултата приказаних у оквиру ове докторске дисертације са до сада објављеним резултатима других истраживачких група, закључили смо да је остварен значајан допринос у развоју нових система за инкапсулацију ресвератрола на бази липозома који омогућавају продужено отпуштање ове активне компоненте. Сложени системи описани у овој тези имају велики потенцијал примене, од примене у фармацеутским и козметичким производима (најчешће топикална примена) до примене у функционалним прехранбеним производима са додатом вредношћу. Поред тога, на основу резултата тезе пролипозомна метода се може предложити као један од начина

припреме липозома погодан за веће размере, док употреба комерцијалних липидних смеша смањује трошкове производње липозома.

3.5. Оцена достигнутих способности кандидата за самостални научни рад

Спровodeћи иновативна истраживања током израде докторске дисертације, кандидат Бојана Д. Баланч, дипл. инг. испољила је изузетну стручност у реализацији експеримената кроз модификацију и оптимизацију примењених техника и метода, као и кроз анализу и начин приказивања резултата. Током својих истраживања, спроведених врло одговорно и зрело, испољила је како самосталност у раду, систематичност и креативност, тако и критичност. Током докторских студија, Бојана Баланч се истицала способношћу да на прави начин представи и у потпуности објасни све аспекте бројних експерименталних резултата до којих је долазила како у самосталном тако и у тимском раду. Стручном и аналитичном приступу у постављању и спровођењу експеримента и истраживања посебно је допринео изразито развијен инжењерски приступ који Бојана Баланч константно показује у свом раду. На основу бројних постигнутих резултата и изузетног залагања, те доприноса развоју науке, Комисија је мишљења да кандидат Бојана Д. Баланч, дипл. инг. поседује све неопходне квалитете за самостални научно-истраживачки рад..

4. ОСТВАРЕНИ НАУЧНИ ДОПРИНОС

4.1. Приказ остварених научних доприноса

Научни доприноси резултата истраживања остварених у оквиру ове докторске дисертације се огледају у:

- указивању на предности и ефикасности пролипозомне методе за припрему липозома над конвенционалном методом танког филма;
- дефинисању положаја ресвератрола инкапсулираног у липозоме припремљене употребом комерцијалне липидне смеше;
- идентификовању интеракција између ресвератрола и липозома као и утврђивању утицаја ресвератрола на флуидност липозомне мембране;
- потврди да се инкапсулацијом ресвератрола у липозоме чува антиоксидативна активност ове компоненте која уједно успорава и липидну пероксидацију самих липозома, што директно указује на то да липозоми и ресвератрол имају међусобни стабилизујући ефекат
- дефинисању коефицијената дифузије ресвератрола кроз липозомне мембране и дефинисању отпора који даје липозома мембрана зависно од величине липозома, а све у циљу дефинисања кинетике отпуштања ресвератрола;
- доприносу у конципирању и карактеризацији сложених система липозоми-алгинат који су погоднији за примену у прехранбеној индустрији, а који обезбеђују још спорије отпуштање ресвератрола;

4.2. Критичка анализа резултата истраживања

Полазећи од добро утемељене идеје у овој докторској дисертацији је показано да се употребом комерцијалне липидне смеше при припреми липозома пролипозомном методом добијају липозоми са око четири пута мањим пречником него што је то случај са липозомима припремљеним методом танког филма. Пролипозомна метода обезбеђује монодисперзну суспензију липозома која има висок степен ефикасности инкапсулације ресвератрола, а поред тога је и погоднија за индустријску примену. Иако је до сада публикован мањи број радова који се баве инкапсулацијом ресвератрола у липозоме, према нашем сазнању ова докторска дисертација је јединствена студија по томе што се за припрему липозома користи комерцијална липидна смеша. Употребом комерцијалне липидне смеше и методе која је погоднија за увећање размера, указује се на потенцијл који поседују ови системи са инкапсулираним ресвератролом за ширу примену.

Имајући у виду да нису уочене значајне разлике у термограмима липозома и липозома са инкапсулираним ресвератролом изведен је закључак да је ресвератрол заробљен (инкапсулиран) у липозоме, као и да постоји интеракција ресвератрола и компонената присутних у липидном двослоју. Даљим анализама, применом електронске парамагнетне резонанције и флуоресцентне спектроскопије, потврђено је да се ресвератрол уграђује у унутрашњи део липозомне мембране, а да се флуидност мембране смањује у присуству ресвератрола. Флуидност липозомне мембране је битна са аспекта стабилности у комплексним формулацијама, а такође има утицај и на кинетику отпуштања активне компоненте. Такође је показано да метода припреме липозома нема утицај на флуидности липидне мембране у присуству ресвератрола.

Метода танког филма, али и пролипозомна метода очувале су антиоксидативну активност ресвератрола скоро у потпуности (више од 90%), али је уочено да се

активност изгубила када је примењена ултразвучна сонда за редукцију величине липозома. Утврђено је и да ресвератрол има антиоксидативни потенцијал да инхибира формирање малондиалдехида и да смањује липидну пероксидацију, као и да ефикасно инхибира стварање ОН радикала, док је мало мање ефикасан при инхибицији стварања других реактивних врста.

Резултати кинетике отпуштања указују да је дифузија ресвератрола спорија из липозома и да се максимална концентрација ресвератрола достиже након двоструко више времена у поређењу са контролом на основу чега може да се изнесе закључак да липозоми обезбеђују контролисано и продужено отпуштање ресвератрола. Велики мултиламеларни липозоми имају већи отпор преносу масе за око 75% у поређењу са мањим липозомима, а сви узорци обезбеђују већи отпор дифузији ресвератрола па се могу сматрати погодним за продужено отпуштање ресвератрола.

При конципирању и карактеризацији сложених система липозоми–алгинат показано је да вискозност почетних раствора директно утиче на величину микрочестица формираних поступком електростатичке екструзије. Такође је утврђено да додаток сахарозе као пуниоца повећава степен хидратације лиофилизованих честица, док хитозан нема статистички значајан утицај на вредност средњег пречника честица након хидратације. Ипак, у погледу механичких својстава честица додаток сахарозе нема знатан утицај, док додаток слоја хитозана смањује вредности сила потребних за достизање 30% деформације. Са становишта ефикасности инкорпорације ресвератрола резултати указују на висок степен у свим микрочестичним системима испитаним у овој тези (85-91%).

Скенирајућа електронска микроскопија показала је да липозоми нису агрегирани током припреме микрочестица и да се са додатком липозома смањила порозност хидрогел структуре микрочестица, а код узорка са хитозаном уочен је гушћи површински слој (дебљине око ~7 μm) који има мање порозну структуру у поређењу са осталим узорцима. Резултати експеримената који се односе на кинетику отпуштања ресвератрола потврдили су продужено отпуштање ове компоненте из свих система липозоми–алгинат испитаних у овој тези, а приметно је и да ни један систем не отпусти потпуну количину ресвератрола у току периода испитивања.

Као и свако добро изведено истраживање и ово је отворило нове правце за даља истраживања у смислу дизајнирања напредних („интелигентних“) система за инкапсулацију ресвератрола, ради постизања још бољег контролисаног отпуштања ове компоненте, а са циљем добијања јединственог комерцијалног система који би био погодан за примену код већег броја како прехранбених тако и фармацеутских производа.

4.3. Верификација научних доприноса

Кандидат Бојана Д. Балач је резултате свог истраживања током израде ове дисертације потврдила објављивањем радова у часописима међународног и националног значаја и саопштавањем радова на међународним и националним скуповима. Резултати досадашњег научно-истраживачког рада кандидата у овој области приказани су у 2 (два) рада објављена у научним часописима међународног значаја (ознака групе М20: врста резултата М21, 2 рада), 7 (седам) радова објављених у зборницима скупова међународног значаја штампана у целини и изводу (ознака групе М30: врста резултата М33, 5 радова, М34 2 рада), 1 (један) рад објављена у зборнику скупа домаћег значаја штампаног у целини (ознака групе М60: врста резултата М63, 1 рад).

Списак радова који су резултат истраживања у оквиру докторске дисертације

Категорија M21:

1. **Balanč, B.D.**, Ota, A., Djordjević, V.B., Šentjurc, M., Nedović, V.A., Bugarski, B.M., Poklar Ulrih, N.: Resveratrol-loaded liposomes: interaction of resveratrol with phospholipids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117, 1615–1626, 2015 (**IF=2.003**) (ISSN: 1438-7697).
2. **Isailović, B.**, Kostić, I., Zvonar, A., Đorđević V., Gašperlin, M., Nedović, V., Bugarski, B.: Resveratrol loaded liposomes produced by different techniques. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19, 181–189, 2013 (**IF=2.248**) (ISSN: 1466-8564).

Категорија M33:

1. **Isailović, B.**, Trifković, K., Kostić, I., Pjanović, R., Marković, S., Nedović, V., Bugarski, B.: „Microbeads based on alginate used for prolonged release of resveratrol,“- IV International Congress: „Engineering, Environment and Materials in Processing Industry“, CD proceedings pp 307-311, 04.03-06.03.2015, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, DOI: 10.7251/EEMSR1501307I, ISBN 978-99955-81-18-3
2. Trifković, K., **Isailović, B.**, Milašinović, N., Jovanović, A., Knežević-Jugović, Z., Djordjević, V., Bugarski, B.: „Mechanical properties of alginate-liposomes-based beads with encapsulated resveratrol,“- IV International Congress: „Engineering, Environment and Materials in Processing Industry“, CD proceedings pp. 318-325, 04.03-06.03.2015, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, DOI: 10.7251/EEMEN1501318T, ISBN 978-99955-81-18-3
3. **Isailović, B.D.**, Kostić, I.T., Đorđević, V.B., Nedović, V.A., Bugarski, B.M.: „Proliposome and thin film method for production of liposomes incorporating resveratrol,“- III International Congress: “Engineering, Environment and Materials in Processing Industry”, Jahorina, Bosna i Hercegovina, 04-06 March 2013. *Proceedings*, ISBN 978-99955-81-11-4, pp 247-253.
4. **Isailović, B.**, Đorđević, V., Nedović, V., Bugarski, B.: “Liposome-in-alginate systems for encapsulation of natural antioxidants,“- *Inside Food symposium*, April 9-12, 2013, Leuven, Belgium. *Book of Abstracts and Full Papers*, pp 1-5 http://www.insidefood.eu/INSIDEFOOD_WEB/UK/WORD/proceedings/092P.pdf
5. **Isailović, B.D.**, Kostić, I.T., Zvonar, A., Đorđević V.B., Gašperlin, M., Nedović, V.A., Bugarski B.M.: “Encapsulation of natural antioxidant resveratrol in liposomes,“- *6th Central European Congress on Food*, 23-26 May 2012, Novi Sad, Serbia, *Book of Abstracts and Full Papers*, Published by: University of Novi Sad, Institute of Food Technology, Novi Sad, Serbia, ISBN 978-86-7994-027-8, pp. 1046-1052.

Категорија M34:

1. **Balanč, B.**, Djordjević, V., Marković, S., Trifković, K., Kostić, I., Nedović, V., Bugarski, B.: “Liposome-in-hydrogel systems for delivery of antioxidants,“- II International Congress „Food Technology, Quality and Safety“, 28-30. October 2014,

Novi Sad, Serbia. *Book of abstracts*, Eds.: Lević J., Brlek T., Pojić M., ISBN 978-86-7994-041-4, p83.

2. **Isailović, B.**, Ota, A.; Djordjević, V., Šentjerc, M., Nedović, V, Bugarski, B., Poklar Ulrih, N: „Influence of resveratrol on membrane fluidity of proliposomes,“- *1st Congress on Food Structure Design, Book of Abstracts*, Eds: Vicente A.A., Silva C.L.M., Piazza L., 15-17th October 2014, Porto, Portugal, ISBN: 978-989-97478-5-2, p.44.

Категорија M63:

1. **Isailović, D.B.**, Kostić T.I., Trifković, T.K., Stojanović, N.R., Zarić, M.M., Đorđević, B.V., Bugarski, M.B.: „Difuzija resveratrola iz lipidnih mikročestica dobijenih različitim tehnikama,“- *Prva konferencija mladih hemičara Srbije, Zbornik radova*, Klub mladih hemičara Srbije, Srpsko hemijsko društvo, Beograd 19. – 20. oktobar, 2012, urednici, I. Opsenica, A. Dekanski, ISBN 978-86-7132-051-1, pp. 115-119

5. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

На основу свега наведеног Комисија сматра да докторска дисертација кандидата **Бојане Д. Баланч (рођ. Исаиловић), дипл. инг.,** под насловом "**Липозоми и системи липозоми-алгинат за контролисано отпуштање ресвератрола**" представља значајан и оригиналан научни допринос у датој области, што је и потврђено кроз објављивање радова у часописима међународног и домаћег значаја. Предмет и циљеви који су постављени су јасно наведени и у потпуности остварени. Комисија је мишљења да докторска дисертација под називом "**Липозоми и системи липозоми-алгинат за контролисано отпуштање ресвератрола**" у потпуности испуњава све захтеване критеријуме као и да је кандидат током израде дисертације показао изузетну научно истраживачку способност у свим фазама израде ове дисертације.

Имајући у виду квалитет, обим и научни допринос постигнутих и приказаних резултата, Комисија предлаже Наставно-научном већу Технолошко-металуршког факултета, Универзитета у Београду, да прихвати овај Реферат, пружи на увид јавности поднету докторску дисертацију кандидата **Бојане Д. Баланч (рођ. Исаиловић), дипл. инг.** у законом предвиђеном року, као и да Реферат упути Већу научних области техничких наука Универзитета у Београду и да након завршетка процедуре позове кандидата на усмену одбрану дисертације пред Комисијом у истом саставу.

У Београду, 20.04.2016. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

Проф. др Бранко Бугарски
Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Проф. др Зорица Кнежевић-Југовић
Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Доц. др Рада Пјановић
Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Др Верица Ђорђевић, научни сарадник
Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

Проф. др Виктор Недовић
Универзитета у Београду, Пољопривредни факултет