

ТЕХНОЛОШКО-МЕТАЛУРШКИ
ФАКУЛТЕТ
35/31
(Број захтева)

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ТЕХНИЧКИХ НАУКА
(Назив већа научне области и коме се захтев упућује)

13.03.2017.
(Датум)

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на предлог теме докторске дисертације

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду („Гласник Универзитета“, број 131/06), дате сагласност на предлог теме докторске дисертације:

„Искоришћење отпада из прераде јагорчевине (*Primula veris*), раставића (*Equisetum arvense*) и хајдучке траве (*Achillea millefolium*) за добијање биолошки активних полифенола“

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ: ТЕХНОЛОШКО ИНЖЕЊЕРСТВО

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

МИЛИЦА (Драган) МИЛУТИНОВИЋ, дипл. инж. технологије

2. Назив и седиште факултета на коме је стекао основно образовање: Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет.

3. Година дипломирања: 2008.

Обавештавамо Вас да је Наставно-научно веће, на седници одржаној 23.02.2017. године размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације.

На захтев студента, а увидом у поднета документа, Решењем број 05-10/42 од 26.10.2015. године студенту је одобрено мировање права и обавеза у школској 2015/2016. години због неге детета до годину дана.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

Прилог:

1. Предлог теме докторске дисертације са образложењем
2. Акт надлежног тела факултета о подобности теме за израду докторске дисертације
3. Подаци о ментору.

ДП

На основу чл. 30. став 3. Закона о високом образовању, чл. 40. Статута ТМФ-а и чл. 32. Правилника о докторским студијама ТМФ, на седници Наставно-научног већа Технолошко-металуршког факултета од 23.02.2017. године, донета је

О Д Л У К А

о прихватању Реферата Комисије за оцену подобности теме и кандидата
за израду докторске дисертације

Прихвата се Реферат Комисије за оцену подобности теме и кандидата и одобрава израда докторске дисертације МИЛИЦИ МИЛУТИНОВИЋ, дипл. инж. технологије, под називом: „Искоришћење отпада из прераде јагорчевине (*Primula veris*), раставића (*Equisetum arvense*) и хајдучке траве (*Achillea millefolium*) за добијање биолошки активних полифенола“.

Одлуку о давању сагласности на предлог теме докторске дисертације доноси Универзитет у Београду.

За ментора се одређује др Сузана Димитријевић Бранковић, редовни професор Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет.

Одлуку доставити: Универзитету у Београду на сагласност, кандидату, ментору, Служби за наставно студентске послове и архиви Факултета.

Д Е К А Н

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

за кандидата **Милицу Милутиновић**

Име и презиме ментора: **Сузана Димитријевић-Бранковић**

Звање: редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Ranić, M., Konić-Ristić, A., Takić, M., Glibetić, M., Pavlović, Z., Pavlović, M., **Dimitrijević-Branković, S.** Nutrient profile of black coffee consumed in Serbia: Filling a gap in the food composition database *Journal of Food Composition and Analysis*, 40, 2015, 61-69. (IF 2.780, Food Science & Technology, 21/124, ISSN 0889-1575)
2. Milutinović, M., Radovanović, N., Ćorović, M., Šiler-Marinković, S., Rajilić-Stojanović, M., **Dimitrijević-Branković, S.** Optimisation of microwave-assisted extraction parameters for antioxidants from waste *Achillea millefolium* dust *Industrial Crops and Products*, 77, 2015, 333-341. (IF 3.449, Agricultural Engineering, 2/14, ISSN 0926-6690)
3. Milutinović, M., Radovanović, N., Rajilić-Stojanović, M., Šiler-Marinković, S., Dimitrijević, S., **Dimitrijević-Branković, S.** Microwave-assisted extraction for the recovery of antioxidants from waste *Equisetum arvense*, *Industrial Crops and Products*, 61, 2014, 388-397. (IF 2.837, Agricultural Engineering, 3/12, ISSN 0926-6690)
4. Ivanovic, J., Tadic, V., **Dimitrijevic, S.**, Stamenic, M., Petrovic, S., Zizovic, I. Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar “Čačanska Bestrna”, *Industrial Crops and Products* 53, 2014, 274–281 (IF 2.837, Agricultural Engineering, 3/12, ISSN 0926-6690)
5. Dimitrellou, D., Kandyli, P., Petrović, T., **Dimitrijević-Branković, S.**, Lević, S., Nedović, V., Kourkoutas, Y. Survival of spray dried microencapsulated *Lactobacillus casei* ATCC 393 in simulated gastrointestinal conditions and fermented milk, *LWT - Food Science and Technology*, 71, 2016, 169-174. (IF 2.711, Food Science & Technology, 22/124, ISSN 0023-6438)

Заокружити одговарајућу опцију (А, Б, В или Г):

А) У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији техничко-технолошких, природно-математичких и медицинских наука ментор треба да има најмање три рада са SCI, SSCI, AHCI или SCIE листе, као и Math-Net.Ru листе.

Б) У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији друштвено-хуманистичких наука ментор треба да има најмање три рада са релевантне листе научних часописа (Релевантна листа научних часописа обухвата SCI, SSCI, AHCI и SCIE листе, као и ERIH листу, листу часописа које је Министарство за науку класификовало као M24 и додатну листу часописа коју ће, на предлог универзитета, донети Национални савет за високо образовање. Посебно се вреднују и монографије које Министарство науке класификује као M11, M12, M13, M14, M41 и M51.)

В) У случају израде докторске дисертације према ранијим прописима за кандидате који су стекли академски назив магистра наука ментор треба да има пет радова (референци) које га, по оцени Већа научних области, квалификују за ментора односно дисертације.

Г) У случају да у ужој научној области нема квалификованих наставника, приложити одлуку Већа докторских студија о именовању редовног професора за ментора.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Датум: 13.02.2017.

М.П.

Проф. др Ђорђе Јанаћковић

**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Predmet: Podobnost teme i kandidata Milice Milutinović, dipl. inž. tehnologije za izradu doktorske disertacije

Odlukom Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta br. 35/506 od 24.11.2016. godine, imenovani smo za članove Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata Milice Milutinović za izradu doktorske disertacije i naučne zasnovanosti teme pod nazivom „**Iskorišćenje otpada iz prerade jagorčevine (*Primula veris*), rastavića (*Equisetum arvense*) i hajdučke trave (*Achillea millefolium*) za dobijanje biološki aktivnih polifenola**”

Na osnovu materijala priloženog uz Zahtev kandidata, Komisija podnosi sledeći

REFERAT

1. Podaci o kandidatu

1.1. Biografski podaci

Kandidatkinja Milica Milutinović (devojačko Rajilić) je rođena 1983. godine u Bugojnu u Bosni i Hercegovini. Osnovnu školu i IX beogradsku gimnaziju je završila u Beogradu.

Studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu je upisala školske 2002/2003. godine. Diplomirala je na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju 9. jula 2008. sa ocenom na diplomskom radu 10 (deset) i prosečnom ocenom u toku studija 9,33. Dobitnik je priznanja Srpskog hemijskog društva za ukupan izuzetan uspeh u toku studiranja.

Doktorske akademske studije je upisala školske 2010/2011. godine na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju pod mentorstvom dr Suzane Dimitrijević-Branković.

1.2. Stečeno naučno-istraživačko iskustvo

Kandidatkinja je položila sve ispite predviđene planom i programom doktorskih studija sa prosečnom ocenom 10, uključujući i Završni ispit pod nazivom: „Biljni otpad kao izvor bioaktivnih jedinjenja“ pred komisijom u sastavu: Dr Suzana Dimitrijević-Branković, Dr Slavica Šiler-Marinković, Dr Dušan Antonović.

Spisak položenih ispita na doktorskim studijama:

Naziv predmeta	ESPB	Ocena
Hemijska kinetika	5	10
Odabrana poglavlja biohemije - vitamini	5	10
Odabrana poglavlja matematičke analize	5	10
Biohemijska kinetika	5	10
Industrijska mikrobiologija	5	10
Strukturna analiza organskih molekula	6	10
Imobilisani biokatalizatori: tehnike imobilizacije, bioreaktori i primena	6	10
Bioaktivne materije u kozmetičkim proizvodima	4	10
Sanitarna mikrobiologija	4	10
Inženjerstvo ćelije	5	10
Engleski jezik		10
Završni ispit	30	10
Zbir ESPB 80		Prosečna ocena 10,00

Od septembra 2009. do decembra 2010. je zaposlena kao istraživač pripravnik na Institutu za hemiju, tehnologiju i metalurgiju u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja: Geološka i ekotoksikološka istraživanja u identifikaciji geopatogenih zona toksičnih elemenata i prirodne radioaktivnosti u akumulacijama vode za piće u Republici Srbiji (ON 146021 B). Od 1. februara 2011. godine, zaposlena je kao istraživač pripravnik na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, na Katedri za biohemijsko inženjerstvo i biotehnologiju, u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja: Primena biotehnoloških metoda u održivom iskorišćenju nus-proizvoda agroindustrije (TR 31035) kojim rukovodi prof. dr Suzana Dimitrijević- Branković. U zvanje istraživač saradnik izabrana je 30. maja 2013. godine.

Spisak objavljenih naučnih radova i saopštenja

Rad u međunarodnom časopisu izuzetnih vrednosti (M21a)

1. **Milutinović, M.**, Radovanović, N., Rajilić-Stojanović, M., Šiler-Marinković, S., Dimitrijević, S., Dimitrijević-Branković, S. (2014): Microwave-assisted extraction for the recovery of antioxidants from waste *Equisetum arvense*, Industrial Crops and Products, 61, 388-397, ISSN: 0926-6690, IF (2015) = 3,449
2. **Milutinović, M.**, Radovanović, N., Čorović, M., Šiler-Marinković, S., Rajilić-Stojanović, M., Dimitrijević-Branković, S. (2015): Optimisation of microwave-assisted extraction parameters for antioxidants from waste *Achillea millefolium* dust, Industrial Crops and Products, 77, 333-341, ISSN: 0926-6690, IF (2015) = 3,449

Rad u istaknutom međunarodnom časopisu (M22)

1. Radovanović, L., Rogan, J., Poleti, D., **Milutinović, M.**, Rodić, M. V. (2016): Polymeric zinc complexes with 2, 2'-dipyridylamine and different benzenepolycarboxylato ligands: Synthesis, structure, characterization and antimicrobial activity, Polyhedron, 112, 18-26, ISSN: 0277-5387, IF (2015) = 2,108

Rad u međunarodnom časopisu (M23)

1. **Milutinović, M. D.**, Šiler-Marinković, S. S., Antonović, D. G., Mihajlovska, K. R., Pavlović, M. D., Dimitrijević-Branković, S. I. (2013).): Antioksidativna svojstva sušenih ekstrakata iz otpadne espresso kafe. Hemijska industrija, 67(2), 261-267, ISSN: 0367-598X, IF (2013) = 0,562
2. Pavlović, M., Nikolić, I., **Milutinović, M.**, Dimitrijević-Branković, S., Šiler-Marinković, S., Antonović, D., (2015). Plant waste materials from restaurants as the adsorbents for dyes. Hemijska industrija, 69(6), 667-677, ISSN: 0367-598X, IF (2015) = 0,462

Rad u vodećem časopisu nacionalnog značaja (M51)

1. **Milutinović, M.**, Radovanović, N., Dimitrijević, S., Šiler-Marinković, S., Rajilić-Stojanović, M. (2015). Valorisation of medicinal plant waste — Production of polyphenolic antioxidant extracts from waste *Primula veris* L. Ecologica, 22, 19-24, ISSN: 0354 - 3285

Saopštenje na međunarodnog skupa štampano u celini (M33)

1. Mihajlovski K, Pavlović M., **Milutinović M.**, Šiler-Marinković S., Dimitrijević-Branković S., (2012). Effect of fermentation by *Streptomyces* sp. on antioxidant properties of spent coffee extracts, 6th Central European Congress on Food – CEFood 2012, Novi Sad, Srbija, 23-26 maj 2012., 1035-1039, ISBN: 978-86-7994-027-8,
2. Pavlović M. D., Buntić A. V., Šiler-Marinković S. S., Antonović D. G., **Milutinović M. D.**, Radovanović N. R., Dimitrijević Branković S. I. (2014). Spent coffee grounds as adsorbents for pesticide paraquat removal from its aqueous solutions, International

Saopštenje na međunarodnog skupa štampano u izvodu (M34)

1. Ranić M., Dimitrijević-Branković S., Arsić A., Ivanović J., **Milutinović M.**, Šiler-Marinković S., (2011), Fatty acid profiles of supercritical extracts of commercial espresso coffee and spent coffee, *Annals of Nutrition and Metabolism*, 11th European Nutrition Conference FENS, Madrid, Španija 26-29 oktobar 2011., vol 58, suppl 3, 102, DOI:10.1159/000334393
2. **Milutinović M.**, Šiler-Marinković S., Ranić M., Dimitrijević-Branković S., (2011), Total polyphenols and antioxidative activity of water extracts of spent coffee, *Annals of Nutrition and Metabolism*, 11th European Nutrition Conference FENS, Madrid, Španija, 26-29 oktobar 2011., vol 58, suppl 3, 396-397, DOI:10.1159/000334393
3. **Milutinović M. D.**, Pavlović M. D., Šiler-Marinković S. S., Stojanović-Rajilić M. D., Dimitrijević-Branković S. I., (2013). Fermentation of spent espresso coffee by *Hymenobacter psychrotolerans*, 8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries - ICOSECS 8, Beograd, Srbija, 27-29 jun 2013., 245. ISBN: 978-86-7132-053-5
4. Ranić, M., **Milutinović, M.**, Ristić, A. K., Branković, S. D. (2015), Optimization of microwave-assisted extraction of natural antioxidants from spent black coffee grounds by response surface methodology, *Annals of Nutrition and Metabolism*, 12th European Nutrition Conference (FENS) Berlin, Nemačka, 20–23 oktobar 2015., vol 67, suppl 1, 547, DOI: 10.1159/000440895

1.3. Ocena podobnosti kandidata za rad na predloženoj temi

Na osnovu dosadašnjeg rada i pokazanih rezultata tokom doktorskih studija i u okviru naučno-istraživačkog rada Milica Milutinović je pokazala izrazitu sklonost i sposobnost za bavljenje naučno-istraživačkim radom. Takođe, iz same predložene teme disertacije do sada je objavila kao prvi autor, dva rada u međunarodnom časopisu izuzetnih vrednosti i jedan rad u vodećem časopisu nacionalnog značaja, dok je iz oblasti doktorske disertacije bila koautor jednog rada u istaknutom međunarodnom časopisu i dva rada u međunarodnom časopisu, kao i 6 saopštenja na međunarodnim i domaćim skupovima, što ukazuje na njen veoma kvalitetan rad, pa tako ispunjava sve potrebne uslove za rad na predloženoj temi doktorske disertacije.

2. Predmet i cilj istraživanja

Upotreba lekovitih biljaka u prevenciji i lečenju različitih oboljenja stara je koliko i samo čovečanstvo, a lekovito bilje se u velikoj meri koristili mnogi narodi kroz čitavu istoriju ljudske civilizacije. Pozitivan uticaj na zdravlje čoveka se objašnjava prisustvom sekundatnih metabolita u biljkama, koje mogu ispoljavati različite biološke aktivnosti.[1]. Svetska zdravstvena organizacija, WHO (eng. *World Health Organization*) procenjuje da od 65 do 80% svetske populacije koristi lekovito bilje kao primarni oblik zdravstvene zaštite[2]. Preradom lekovitog bilja zaostaje otpad koji je bogat biološki aktivnim jedinjenjima i procenjuje se da se godišnje u Srbiji proizvede oko 100 tona otpada od prerade lekovitog bilja[3]. Sa ekonomske strane upotreba otpadnih sirovina je veoma opravdana, jer se one koriste kao jeftina polazna sirovina za proizvodnju drugih vrednih proizvoda. Dok se sa ekološke strane, upotrebom otpadnih sirovina može postići smanjenje organskog opterećenja i smanjenje zagađujućeg uticaja nekih od njihovih komponenti prilikom ispuštanja u prirodu[4].

Jedna od tehnika kojim se valorizuje otpad iz prerade lekovitog bilja je ekstrakcija bioaktivnih jedinjenja, konvencionalnim ili modernim tehnikama ekstrakcije, tako da se dobijaju biološki aktivni proizvodi. Ovakvi ekstrakti mogu da pokazuju antioksidativnu aktivnost, a razlog za ovakvo iskorišćenje biljnog otpada je i što postoji povećana potražnja za prirodnim antioksidansima koji bi mogli da zamene potencijalno štetne sintetičke antioksidanse[5]. Takođe, biljni ekstrakti mogu da pokazuju i antimikrobnu aktivnost. Velika potrošnja antibiotika je dovela

do rezistencije patogenih mikroorganizama i podstakla je ispitivanje antimikrobnog delovanja različitih biljnih ekstrakata u cilju pronalaženja novih antimikrobnih agenasa [6, 7].

Efikasna, i u poslednje vreme dosta proučavana tehnika ekstrakcije polifenola iz različitih biljnih materijala je mikrotalasna ekstrakcija čijom primenom se značajno smanjuje vreme potrebno za ekstrakciju bioaktivnih jedinjenja i količina upotrebljenog rastvarača u poređenju sa klasičnim metodama ekstrakcije[8-10]. Kao rastvarač je pogodno koristiti rastvor etanola, čije su prednosti dobra selektivnost bioaktivnih jedinjenja, polifenola i netoksičnost, odnosno to je rastvarač koji ima GRAS (eng. *Generally recognized as safe*) status[11, 12]. Tako dobijene ekstrakte je moguće inkorporirati u hranu i/ili farmaceutske proizvode sa ciljem povećanja njihove nutritivne vrednosti i stabilnosti[12].

Povećana antioksidativna aktivnost u ekstraktima se može postići i fermentacijom biljnih uzoraka. Tokom fermentacije biljnog materijala može da se poveća sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativna aktivnost ekstrakata, što može da bude posledica dva mehanizma. U prvom mogućem mehanizmu se tokom fermentacije razgrađuje ćelijski zid biljke i olakšava se oslobađanje polifenola, dok se u drugom predloženom mehanizmu konvertuju ili depolimerizuju polifenolna jedinjenja visoke molekulske mase, tako da se tokom fermentacije glikozilovani polifenoli prevode u odgovarajuće aglikone, koji su jači antioksidansi, pa se dobijaju ekstrakti koji pokazuju jaču antioksidativnu aktivnost[13, 14].

Pregledom literature je ustanovljeno da jagorčevina, hajdučka trava i rastavić poseduju brojne biološke aktivnosti, kao što su antioksidativna, antimikrobna, citotoksična, anti-inflamatorna aktivnost, zahvaljujući prisustvu polifenola [15-24]. Otpad koji će se koristiti u ovom istraživanju predstavlja prah koji je dobijen nakon mehaničke prerade lekovitog bilja, odnosno usitnjavanja i prosejavanja, pa se može pretpostaviti da će on posedovati iste biološke aktivnosti kao i sama lekovita biljka. Predmet rada ove doktorske disertacije je korišćenja otpadnog materijala iz prerade jagorčevine, hajdučke trave i rastavića za dobijanje ekstrakata koji su bogati polifenolima. U tu svrhu u prvom delu istraživanja će se odrediti optimalni uslovi ekstrakcije polifenolnih jedinjenja iz odabranog otpadnog lekovitog bilja, primenom vodenih rastvora etanola i mikrotalasne ekstrakcije MAE (eng. *Microwave assisted extraction*), čime će značajno da se smanji vreme koje je potrebno za dobijanje ekstrakta sa maksimalnim prinosom polifenola. Optimizacija će se izvesti pomoću metode odzivnih površina, RSM (eng. *Response Surface Method*), praćenjem uticaja različitih promenljivih (vreme ekstrakcije, koncentracija etanola, odnos rastvarač/čvrta faza i snaga mikrotalasnog zagrevanja) na prinos ekstrakcije, sadržaj ukupnih polifenola, sadržaj flavonoida u ekstraktima i antioksidativnu aktivnost ekstrakata, koja će biti određena pomoću dve metode, FRAP i DPPH. Sastav ekstrakata koji su dobijeni pod optimalnim uslovima pomoću mikrotalasa će se uporediti sa sastavom ekstrakata nakon klasične ekstrakcije primenom tečne hromatografije visokih performansi.

Nakon dobijanja ekstrakata sa maksimalnim sadržajem ukupnih polifenola ispitaće se biološka aktivnost ekstrakata. Odnosno, ispitaće se antimikrobna aktivnost prema određenim patogenim mikroorganizmima, ali i uticaj ekstrakata na rast probiotskih kultura. Osim toga, ispitaće se i inhibicija acetilholinesteraze, enzima koji se koriste u tretmanu brojnih neuromuskularnih bolesti, i predstavljaju prvu generaciju lekova koji se koriste u tretmanu Alchajmerove bolesti.

Ispitaće se i mogućnost dobijanja ekstrakata sa većim sadržajem ukupnih polifenola, koji pokazuju veću antioksidativnu aktivnost, kada se pre ekstrakcije uzorci otpadnih lekovitih biljaka fermentišu mikroorganizmima sa GRAS statusom. Nakon fermentacije i mikrotalasne ekstrakcije pod optimalnim uslovima za svaku biljku, u ekstraktima će se odrediti sadržaj ukupnih polifenola, sadržaj flavonoida i antioksidativna aktivnost. Utvrdiće se i uticaj mikroorganizama na sastav polifenola u biljnim ekstraktima primenom tečne hromatografije visokih performansi.

1. Folashade, O., H. Omoregie, and P. Ochogu, *Standardization of herbal medicines-A review*. Int. J. Biodivers. Conserv., 2012. 4(3): p. 101-112.

2. Palhares, R.M., et al., *Medicinal plants recommended by the world health organization: DNA barcode identification associated with chemical analyses guarantees their quality*. PloS one, 2015. **10**(5): p. e0127866.
3. Stefanović, R., *Paradigma održivog razvoja poljoprivrede - strateški koncept zaštite životne sredine*. Ecologica, 2010: p. 112-114.
4. Toussoun, T., et al., *Nature of phytotoxic substances produced during plant residue decomposition in soil*. Phytopathology, 1968. **58**(4145): p. 22.
5. Shahidi, F., *Antioxidants in food and food antioxidants*. Mol. Nutr. Food Res., 2000. **44**(3): p. 158-163.
6. Mahesh, B. and S. Satish, *Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens*. World J. Agr. Sci., 2008. **4**(5): p. 839-843.
7. Farooqui, A., et al., *Synergistic antimicrobial activity of Camellia sinensis and Juglans regia against multidrug-resistant bacteria*. PloS one, 2015. **10**(2): p. e0118431.
8. Dahmoune, F., et al., *Valorization of Citrus limon residues for the recovery of antioxidants: Evaluation and optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction*. Ind. Crop. Prod., 2013. **50**: p. 77-87.
9. Dahmoune, F., et al., *Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from Myrtus communis L. leaves*. Food Chem., 2015. **166**: p. 585-595.
10. Veggi, P.C., J. Martinez, and M.A.A. Meireles, *Fundamentals of microwave extraction*, in *Microwave-Assisted Extraction for Bioactive Compounds*. 2012, Springer. p. 15-52.
11. FDA, F.D.A., *Guidance for Industry: Q3C-Tables and List*. Rockville, MD: FDA, 2012.
12. Herrero, M., et al., *Optimization of accelerated solvent extraction of antioxidants from Spirulina platensis microalga*. Food Chem., 2005. **93**(3): p. 417-423.
13. Hur, S.J., et al., *Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods*. Food Chem., 2014. **160**: p. 346-356.
14. Wu, S.-C., Y.-S. Su, and H.-Y. Cheng, *Antioxidant properties of Lactobacillus-fermented and non-fermented Graptopetalum paraguayense E. Walther at different stages of maturity*. Food Chem., 2011. **129**(3): p. 804-809.
15. Candan, F., et al., *Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of Achillea millefolium subsp. millefolium Afan.(Asteraceae)*. J. Ethnopharmacol., 2003. **87**(2): p. 215-220.
16. Lakshmi, T., et al., *Yarrow (Achillea millefolium linn). A herbal medicinal plant with broad therapeutic use-A review*. Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 2011. **9**: p. 136-141.
17. Stojanović, G., et al., *In vitro antimicrobial activity of extracts of four Achillea species: The composition of Achillea clavennae L.(Asteraceae) extract*. J. Ethnopharmacol., 2005. **101**(1): p. 185-190.
18. Dias, M.I., et al., *Chemical composition of wild and commercial Achillea millefolium L. and bioactivity of the methanolic extract, infusion and decoction*. Food Chem., 2013. **141**(4): p. 4152-4160.
19. Demir, N., et al., *The antioxidant and radical scavenging activities of Primrose (Primula vulgaris)*. Eur. J. Exp. Biol., 2014. **4**: p. 395-401.
20. Başbülbül, G., et al., *Antimitotic and antibacterial effects of the Primula veris L. flower extracts*. Caryologia, 2008. **61**(1): p. 88-91.
21. Nagai, T., T. Myoda, and T. Nagashima, *Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (tsukushi) Equisetum arvense L.* Food Chem., 2005. **91**(3): p. 389-394.
22. Milovanović, V., et al., *Antioxidant, antimicrobial and genotoxicity screening of hydro-alcoholic extracts of five Serbian Equisetum species*. Plant Food Hum. Nutr., 2007. **62**(3): p. 113-119.
23. Radulović, N., G. Stojanović, and R. Palić, *Composition and antimicrobial activity of Equisetum arvense L. essential oil*. Phytother. res., 2006. **20**(1): p. 85-88.

24. Garcia, D., et al., *Mould growth and mycotoxin production as affected by Equisetum arvense and Stevia rebaudiana extracts*. Food control, 2011. 22(8): p. 1378-1384.

3. Polazne hipoteze

Prva polazna hipoteza je da se u otpadnom lekovitom bilju nalazi velika količina polifenola, i da kao takav, otpad od proizvodnje lekovitog bilja predstavlja jeftinu i dostupnu sirovinu za dobijanje prirodnih antioksidanasa. U tu svrhu je potrebno definisati optimalne uslove mikrotalasne ekstrakcije za dobijanje maksimalnog prinosa polifenola primenom etanola kao netoksičnog rastvarača, pri čemu se ispituju uticaji različitih parametara (vreme ekstrakcije, koncentracija etanola, snaga mikrotalasnog zagrevanja i odnos rastvarač/čvrsta faza uzorka). Kao osnovni kriterijum u evaluaciji uzimaće se sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativni potencijal dobijenih ekstrakata.

Druga polazna hipoteza je da dobijeni biljni ekstrakti poseduju biološke aktivnosti. Ispitaće se antimikrobna aktivnost ekstrakata i biće definisan minimalna inhibitorna koncentracija ekstrakata na Gram negativne, Gram pozitivne bakterije, kvasce i fitopatogene plesni. Ispitaće se i da li dobijeni ekstrakti mogu da stimulišu rast odabranih probiotskih kultura. Takođe će biti ispitano i da li ekstrakti koji sadrže maksimalne prinose polifenola mogu da inhibiraju enzim acetilholinesterazu.

Treća polazna hipoteza je da se fermentacijom otpadnih lekovitih biljaka može povećati sadržaj ukupnih polifenola u ekstraktima i antioksidativna aktivnost dobijenih ekstrakata. Ispitaće se mogućnost fermentacije otpadnog lekovitog bilja sa nekoliko mikroorganizama sa GRAS statusom, a zatim će se ekstrahovati polifenoli prema optimalnim uslovima primenom mikrotalasa.

4. Naučne metode istraživanja

Istraživanja u doktorskoj disertaciji se mogu podeliti na tri dela.

U prvom delu će se optimizovati mikrotalasna ekstrakcija polifenola iz otpadnih lekovitih biljaka (jagorčevine, hajdučke trave i rastavića) korišćenjem netoksičnog rastvarača odnosno vodenog rastvora etanola. Za optimizaciju procesa i statističku analizu koristiće se programski paket Design Expert 8 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, USA). Ispitaće se uticaj četiri procesne promenljive (vreme ekstrakcije, koncentracija etanola, odnos rastvarač/čvrsta faza, snaga mikrotalasnog zagrevanja) na izlaze sistema (prinos ekstrakcije, sadržaj ukupnih polifenola, sadržaj flavonoida i antioksidativna aktivnost ekstrakata). Dalje će se ispitati mogućnost uvećanja procesa mikrotalasne ekstrakcije polifenola u laboratorijskim uslovima (kućna mikrotalasna pećnica), pri čemu će se povećavati masa uzorka i snaga mikrotalasnog zagrevanja, dok će se održavati konstantnom nominalna adsorbovana snaga (koja predstavlja jedinicu primenjene mikrotalasne snage po jedinici zapremine rastvarača, W/ml), a u uzorcima će se pratiti sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost primenom DPPH i FRAP metode.

U drugom delu rada će se pratiti bioaktivnost ekstrakata dobijenih pod optimalnim uslovima. Ispitaće se antimikrobna aktivnost na patogenim mikroorganizmima (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27833, *Listeria monocytogenes* IM 2000, *Candida albicans* ATCC 10259, *Escherichia coli* ATCC 25922 i *Enterococcus faecalis* ATCC 29812). Određivanje minimalnih inhibitornih koncentracija (MIC) pratiće se serijskim razblaživanjem biljnih ekstrakata i dodavanjem u tečni medijum sa inokulumom. Takođe, ispitaće se i antifungalna aktivnost prema fitopatogenim plesnima *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticilloides* i *Fusarium proliferatum*. Dalje će biti ispitano da li i koliko biljni ekstrakti stimulišu rast probiotskih kultura (*Lactobacillus rhamnosus* i *Saccharomyces boulardii*) dodavanjem biljnih ekstrakata u tečni medijum sa inokulumom i praćenjem broja izraslih kolonija u odnosu na kontrolni uzorak u koji nije dodat biljni ekstrakt. Ispitaće se inhibitorna aktivnost dobijenih ekstrakata prema enzinu acetilholinesterazi.

U trećem delu rada će se ispitati da li se može povećati sadržaj ukupnih polifenola i antioksidativna aktivnost ekstrakata kada se pre ekstrakcije otpadne lekovite biljke fermentišu mikroorganizmima (*Lactobacillus rhamnosus* i *Saccharomyces boulardii*). Nakon fermentacije će se ekstrahovati polifenoli primenom mikrotalasne ekstrakcije pod optimalnim uslovima za svaku biljku. U uzorcima će se pratiti sadržaj ukupnih polifenola, flavonoida i antioksidativna aktivnost primenom DPPH i FRAP metode.

5. Očekivani naučni doprinos

Naučni doprinos ovog rada se ogleda u sledećem:

- Rezultati koji proisteknu iz rada na ovoj doktorskoj disertaciji mogu predstavljati značajan doprinos iskorišćenja otpadnih lekovitih biljaka za dobijanje bioaktivnih polifenola. Kao rezultat istraživanja očekuje se optimizovan proces mikrotalasne ekstrakcije zadobijanje ekstrakata sa maksimalnim sadržajem polifenola iz tri otpadne lekovite biljke (jagorčevine, hajučke trave, rastavića). U dobijenim ekstraktima će biti definisan i sadržaj flavonoida i antioksidativna aktivnost.

- Kao rezultat drugog dela rada, očekuje se definisana antimikrobna aktivnost ekstrakata sa minimalnim inhibitornim koncentracijama ekstrakata koji su dobijeni pod optimalnim uslovima. Takođe, očekuje se da će biti definisana stimulativna aktivnost dobijenih ekstrakata prema izabranim probiotskim kulturama. Do sada u radovima nije izučavan uticaj ove tri lekovite biljke na rast probiotskih kultura. Osim toga, biće definisana inhibitorna aktivnost prema acetilholinesterazi.

- Kao rezultat trećeg dela rada očekuje se da će biti definisan uticaj različitih mikroorganizama, kojima će se vršiti fermentacija otpadnog lekovitog bilja na sadržaj polifenola u ekstraktima. Nakon fermentacije i mikrotalasne ekstrakcije pod optimalnim uslovima za svaku biljku, u ekstraktima će se odrediti sadržaj ukupnih polifenola, sadržaj flavonoida i antioksidativna aktivnost.

Naučni doprinos će biti verifikovan objavljivanjem većeg broja naučnih radova u relevantnim časopisima.

6. Plan istraživanja i struktura rada

Predmet rada ove doktorske disertacije je ispitivanje mogućnosti iskorišćenja otpada dobijenog u preradi lekovitog bilja (jagorčevine, hajdučke trave i rastavića) za dobijanje ekstrakata sa visokim sadržajem polifenola i definisanje biološke aktivnosti dobijenih ekstrakata.

U toku rada na disertaciji predviđene su sledeće faze i aktivnosti u istraživanju:

- Izvršiće se optimizacija mikrotalasne ekstrakcije sa ciljem dobijanja maksimalnog prinosa polifenola iz jagorčevine, hajdučke trave i rastavića. Pratiće se uticaj vremena ekstrakcije, koncentracije etanola, odnosa rastvarač/čvrsta faza uzorka i snage mikrotalasnog zagrevanja na sadržaj ukupnih polifenola u ekstraktima, sadržaj flavonoida u ekstraktima i antioksidativnu aktivnost dobijenih ekstrakata, koja će biti praćena primenom dve metode, DPPH i FRAP.
- Ispitaće se antimikrobna aktivnost ekstrakata sa maksimalnim sadržajem polifenola na patogene mikroorganizme (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27833, *Listeria monocytogenes* IM 2000, *Candida albicans* ATCC 10259, *Escherichia coli* ATCC 25922 i *Enterococcus faecalis* ATCC 29812).
- Ispitaće se antifungalna aktivnost na fitopatogene plesni *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticilloides* i *Fusarium proliferatum*.
- Ispitaće se stimulacija rasta probiotskih kultura (*Lactobacillus rhamnosus* i *Saccharomyces boulardii*)
- Ispitaće se inhibitorna aktivnost prema enzimu acetilholinesterazi.

- Ispitaće se uticaj fermentacije otpadnih lekovitih biljaka mikroorganizmima sa GRAS satusom (*Lactobacillus rhamnosus* i *Saccharomyces boulardii*)

Predviđeno je da doktorska disertacija ima sledeća poglavlja: **Uvod, Teorijski deo, Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Zaključak i Literatura.**

Poglavljje **Uvod** obuhvatiće glavne ciljeve disertacije, predmet istraživanja i očekivani doprinos disertacije.

Teorijski deo doktorske disertacije obuhvatiće pregled literature prethodnih istraživanja koja se odnose na otpad koji se dobija preradom lekovitog bilja, morfološke i etnofarmakološke karakteristike odabranih biljnih vrsta. Analiziraće se prethodna istraživanja koja se odnose na ekstrakciju polifenola iz biljnih materijala, a posebna pažnja će se posvetiti tehnici mikrotalasne ekstrakcije. Analiziraće se istraživanja vezana za slobodne radikale i antioksidanse, antimikrobnu aktivnost ekstrakata lekovitih biljaka i primenu lekovitih biljaka kao stimulatora rasta probiotskih kultura i inhibitora enzima acetilholinesteraze. Analiziraće se istraživanja koja se odnose na fermentaciju biljnih uzoraka mikroorganizmima i njihov uticaj na sadržaj polifenola u ekstraktima i biološke aktivnosti ekstrakata.

U **Eksperimentalnom delu** biće navedene metode korišćene u eksperimentalnom radu:

- Matrijal, hemikalije i oprema korišćene u radu;
- Određivanje sadržaja vlage u uzorcima;
- Postupak klasične ekstrakcije;
- Postupak mikrotalasne ekstrakcije;
- Određivanje prinosa ekstrakcije;
- Određivanje sadržaja ukupnih polifenola u ekstraktima;
- Određivanje sadržaja flavonoida u ekstraktima;
- Ispitivanje sposobnosti neutralizacije DPPH radikala;
- Određivanje antioksidativne aktivnosti FRAP metodom;
- Ispitivanje antimikrobne aktivnosti ekstrakata;
- Određivanje minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) ekstrakata;
- Ispitivanje stimulativne aktivnosti ekstrakata prema probiotskim mikroorganizmima;
- Inhibicija acetilholinesteraze (AChE);
- Fermentacija otpadnih lekovitih biljaka

U poglavlju **Rezultati i diskusija** biće prikazana analiza rezultata dobijenih sprovedenim eksperimentima, kao i diskusija dobijenih rezultata. Detaljno će biti prikazano postavljanja modela optimizacije uslova ekstrakcije za dobijanje maksimalnog prinosa polifenola iz uzoraka otpadnih lekovitih biljaka (jagorčevine, rastavića i hajdučke trave). Definišaće se i efikasnost mikrotalasne ekstrakcije poređenjem sa klasičnom ekstrakcijom polifenola iz otpadnog lekovitog bilja. Analiziraće se dobijeni rezultati o antimikrobnom delovanju ekstrakata, stimulaciji probiotika i inhibiciji acetilholinesteraze. Takođe će biti analizirano da li fermentacija otpadnih lekovitih biljaka doprinosi povećanju sadržaja ukupnih polifenola, flavonoida i antioksidativne aktivnosti ekstrakata. Rezultati će se porediti sa relevantnim podacima iz dostupne naučne literature. U skladu sa tim doneće se zaključci o potencijalnoj primeni otpada od jagorčevine, hajdučke trave i rastavića u proizvodnji suplemenata.

U poglavlju **Zaključak** na osnovu izvršenih eksperimenata biće sumirani svi dobijeni rezultati.

Poglavljje **Literatura** će obuhvatiti navode citirane u disertaciji obuhvatajući i radove proistekle u toku rada na doktorskoj disertaciji.

7. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu iznetog, Komisija smatra da je tema predložene doktorske disertacije kandidata Milice Milutinović pod nazivom „Iskorišćenje otpada iz prerade jagorčevine (*Primula veris*), rastavića (*Equisetum arvense*) i hajdučke trave (*Achillea millefolium*) za dobijanje biološki aktivnih polifenola” naučno zasnovanai da predstavlja značajan doprinos naučnoj oblasti Tehnološko inženjerstvo za koju je Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu matična ustanova. Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu da kandidatu Milici Milutinović odobri izradu doktorske disertacije pod navedenim naslovom. Za mentora pri izradi doktorske disertacije predlaže se dr Suzana Dimitrijević-Branković, redovni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu 06.02.2017.

ČLANOVI KOMISIJE

Prof. dr Suzana Dimitrijević Branković, redovni profesor
Univerziteta u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Prof. Dr Slavica Šiler-Marinković, redovni profesor Univerziteta
u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Prof. Dr Dušan Antonović, redovni profesor Univerziteta u
Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Dr Vesna Lazić, naučni saradnik Instituta za nuklearne nauke
„Vinča” Univerziteta u Beogradu